

Einfluß einer Muskularbeit
auf den peripheren Insulinstoffwechsel
Untersuchungen an stoffwechselgesunden
Probanden und Diabetikern
unter Basalbedingungen
und während Glukoseinfusion
sowie an Adipösen während totalen Fastens

Dietmar Frommeld

1982



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549025_0010

Aus der III. Medizinischen Abteilung des Krankenhauses
München-Neuperlach
Chefarzt: Prof. Dr. med. P. Dieterle

Einfluß einer Muskelarbeit
auf den peripheren Insulinstoffwechsel

Untersuchungen an stoffwechselgesunden Probanden und Diabetikern
unter Basalbedingungen und während Glukoseinfusion
sowie an Adipösen während totalen Fastens

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von
Dietmar Frommelt
aus Vilsbiburg

1981

Mit Genehmigung des Fächbereichs Medizin der Universität München

Berichterstatter:	Prof.Dr.med.P.Dieterle
Mitberichterstatter:	Prof.Dr.med.E.Buchborn
Dekan:	Prof.Dr.med.W.Spann
Tag der Mündlichen Prüfung:	14.1.1982



Meinem verstorbenen Vater, meiner Mutter und meiner Braut

INHALTSVERZEICHNIS

Liste der Abkürzungen	3
E i n l e i t u n g	4
P a t i e n t e n g u t	7
Kritische Betrachtung der Kollektive	16
a. Störfaktoren für die Insulinbestimmung	
b. Das mittlere Alter	
c. Das mittlere Gewicht	
M e t h o d i k	17
1. Der allgemeine Versuchsaufbau und die jeweiligen Modifikationen	17
a. Bei allen Probanden angewandter Versuchsaufbau	17
b. Die Handergometer-Technik	17
c. Der Versuchsaufbau bei Arbeit unter Grundumsatzbedingungen	18
d. Versuchsaufbau für Arbeit am Handergometer unter kontinuierlicher Glukosebelastung	18
e. Gewinnung und Aufbewahrung der Seren	20
2. Die Messung der Muskeldurchblutung	20
3. Mögliche Störfaktoren der radioimmunologischen Insulinbestimmung	21
a. Serum- oder Plasmainsulin	21
b. Der Einfluß hämolytischen Serums	21
c. Der Einfluß eines Insulintagesrhythmus	22
d. Der Einfluß einer Diät	22
e. Andere Störfaktoren	22
4. Die Insulin-Bestimmung	23
a. Die chemische, biologische und radioimmunologische Bestimmung	23
b. Das Prinzip des RIA	25
c. Vergleich radioimmunologischer Bestimmungsmethoden	25
d. Apparate und Reagenzien	26
e. Die Puffer-Zubereitung	27
f. Die Bereitung der Standardlösungen	28
g. Der Antikörper	30
h. Das Ansetzen	31
i. Die erste Inkubationszeit	32
k. Das radiomarkierte Insulin	33
l. Die Qualitätsanalyse des J-125 Insulins	34
m. Die zweite Inkubationszeit	35
n. Die Trennung von freiem und gebundenem Insulin	35
o. Die Messung der Radioaktivität	36
p. Der radioaktive Abfall	36
q. Die Berechnung der Serumkonzentrationen	37
r. Die Zuverlässigkeit der Insulin-RIAs	38
s. Was ist immunologisch meßbares Insulin	39
5. Die Bestimmung anderer Stoffwechselsubstrate	40
6. Die statistische Auswertung	40

E r g e b n i s s e	42
I. Die Arbeitsleistung der einzelnen Kollektive	42
II. Die Muskeldurchblutung der einzelnen Kollektive	43
III. Wie verhält sich Insulin bei Stoffwechsel- gesunden während einer 20-minütigen Arbeit?	49
a. Arterielle Spiegel	49
b. Venöse Spiegel	49
c. Arterio-venöse Differenzen	50
c. Insulin-Umsatz ("Uptake/Release")	50
IV. Wie verhält sich Insulin bei Diabetikern ver- schiedensten Schweregrades während der 20-minütigen Arbeit?	57
a. Arterielle Spiegel	57
b. Venöse Spiegel	57
c. Arterio-venöse Differenzen	58
c. Insulin-Umsatz ("Uptake/Release")	58
V. Wie verhält sich Insulin bei total fastenden Adipösen während einer 20-minütigen Arbeit?	66
a. Arterielle Spiegel	66
b. Venöse Spiegel	66
c. Arterio-venöse Differenzen	66
c. Insulin-Umsatz ("Uptake/Release")	70
VI. Wie verhält sich Insulin bei einer Stimulation des Stoffwechsels mit einer definierten Glukose- belastung?	73
a. Arterielle Spiegel	73
b. Venöse Spiegel	74
c. Arterio-venöse Differenzen	75
d. Insulin-Umsatz ("Uptake/Release")	76
e. Berechnung der Sekretionskurven-Integrale	84
D i s k u s s i o n	88
Z u s a m m e n f a s s u n g	112
L i t e r a t u r	118
A n h a n g	131

Liste der Abkürzungen

A	Diabetiker, manifest erkrankt, diätetisch behandelt
<u>Alpha</u>	Signifikanzberechnungskürzel beim Wilcoxon-Rangtest
<u>B</u>	Diabetiker, manifest erkrankt, mit oralen Antidiabetika und/oder Insulin bereits behandelt
B ₀ -Wert	Standardleerwert, der Standard, der 0 µE/ml Antigen enthält und 100% Antikörper-Bindung enthält
C	Patient mit subklinischem D.m.
D.m.	Diabetes mellitus
E	Einheit, in µE Mikroeinheit, in BE Proteineinheit
F	Frau, weiblicher Patient
GA	Gesamtaktivität des Tracers
HGH	Human Growth Hormon (Wachstumshormon)
ILA	Insulin Like Activity (Insulinähnliche Aktivität)
IMI	Immunologisch messbares Insulin, synonym mit IRI (engl.immunoreactive reagent insulin)
IpM	Impulsrate pro Minute, synonym mit CpM (engl.counts per minute)
J.	Jahre
M	Männlicher Patient
MBF	(engl.)Muscular Blood Flow
mg	Milligramm
ml	Milliliter
µE	Mikroeinheiten
N	(Nulldiät) Adipöser Patient während totalen Fastens
N-Wert	(Nullwert) Antikörperleerwert, unspezifische Bindung
RIA	Radioimmunoassay
s	Bereich der einfachen Standardabweichung
<u>S</u>	Patient mit Glukosebelastung (<u>starke</u> Insulinantwort)
<u>S.D.</u>	(engl.)Standard deviation, Standardabweichung
S.E.M.	(engl.)Standard error of the means, Standardabweichung bezogen auf den Mittelwert
<u>T</u>	Patient mit Glukosebelastung, mäßige, <u>teilweise</u> oder <u>trägere</u> Insulinantwort
<u>U</u>	Patient mit Glukosebelastung, <u>unzureichende</u> Insulinproduktion und deshalb fehlende Insulinantwort
V.a.	Verdacht auf
Vgl.	Vergleiche
Vk	Variationskoeffizient
x	Mittelwert
Z.n.	Zustand nach

Einleitung und Problemstellung

Vor 125 Jahren vermutete VIRCHOW wohl als erster, daß das Pankreas eine endokrine Drüse sei. Durch Pankreasektomien bei Tieren konnten vor 90 Jahren MINKOWSKI und MEHRING erstmals einen künstlichen Diabetes mellitus erzeugen. Nur vier Jahre später erkannte LAGUESSE, die von LANGERHANS beschriebenen Inseln im Pankreasgewebe müßten ein endokrines Sekret liefern, das STARLING kurz später in seinem Hormon-Modell verständlicher machte. Diesen Faktor konnte ZÜLZER 1909 aus Pankreata extrahieren und damit auch prompt Therapieerfolge bei Diabetes mellitus erzielen. Im gleichen Jahr bekam Insulin von MEYER seinen Namen. Doch gelang erst 1921 BEST, BANTING und COLLIP der entscheidende Durchbruch, so daß am 11.1.1922 die erfolgreiche Anwendung beim Diabetiker gelang.

1955 klärte SANGER die Aminosäuresequenz des Insulins auf, 1969 erarbeiteten Wissenschaftler unter der Leitung von HODGKIN die dreidimensionale Struktur.

Heute kann Insulin immunohistologisch nachgewiesen werden als ein β -Zell-Hormon des Pankreas. Dort wird es über ein 84 Aminosäuren-Peptid - dem Proinsulin - synthetisiert, unter Katalyse von Zink polymerisiert und in einer Größenordnung von 200 Einheiten endlich in speziellen Granula gespeichert.

Ein Anstieg der Blutglukose mit seinen Änderungen des inneren Milieus der β -Zelle, aber auch ein Anstieg von Aminosäuren, von freien Fettsäuren und möglicherweise von Ketonkörpern wie schließlich die Enterohormone, bringen die Insulin-Sekretion in Gang. So treten täglich ungefähr 40 E durch die β -Zellmembran, die Basalmembranen von β -Zelle und Blutkapillare und durch das Endothel der Blutkapillaren in das Blut über, um die Aufgabe als Bote an der Leberzelle, der Fettzelle und der Muskelzelle zu erfüllen.

Das Wirkungsspektrum des Insulins ist breitgefächert kann aber trotzdem auf einen gemeinsamen Nenner gebracht werden: um nun das unregelmäßige Angebot an Energie mit einem zu jedem Zeitpunkt möglichen und auch spitzenförmig einsetzenden Bedarf koordinieren zu können ist eine Energiebevorratung nötig; dabei

fördert Insulin alle Vorgänge der Energiespeicherung, so die Lipogenese, die Glykogensynthese und Proteinsynthese wie auch die Hemmung von Lipolyse, Glukoneogenese und Proteolyse. Im Gegensatz zu dieser anabolen-antikatabolen Aufgabe muß Insulin an der Muskelzelle gerade dann den Glukose-Membran-Transport fördern, wenn dort während Muskelarbeit die Energie dringend benötigt wird. So stellt sich die Frage, spielt Insulin eine Rolle bei der Muskelarbeit?

Wir wissen, daß Gesetzmäßigkeiten nicht nur für den stoffwechselgesunden Organismus sondern auch für den diabetischen gelten, solange dieser noch Insulin sezerniert. Und doch unterscheiden sich diabetischer und physiologischer Stoffwechsel entscheidend. Spielt Insulin eine Rolle am Muskelgewebe des Diabetikers?

Zur Klärung dieser Fragen untersuchten wir, ob sich Insulin bei Stoffwechselgesunden anders am peripheren Muskelgewebe verhält als bei verschiedenen Formen eines Diabetes, bei rein diätetisch behandelbarem Diabetes, bei therapiebedürftigem Diabetes und bei Adipösen während totalen Fastens, überwiegend Diabetiker.

Wir verwandten die seit HARDWICK 1959 und RABINOWITZ und ZIERLER 1962 vielfach angegebene und bewährte Unterarmmethode (weitere Literatur bei BACHL 1976). Durch Gewinnung arteriellen Blutes kann einerseits eine Aussage über die pankreatische Insulinsekretion gemacht werden, allerdings mit Berücksichtigung des Einflusses der dazwischengeschalteten Leber. Durch Entnahme von venösem Blut streng simultan zur arteriellen Blutgewinnung gelingt es zudem, Aussagen zur augenblicklichen arterio-venösen Differenz zu machen. Da wir zugleich die Durchblutung massen, konnten wir schließlich sogar den momentanen Umsatz beschreiben.

Eine systematische Untersuchung dieser Art liegt über dieses Thema bisher nicht vor, obwohl einzelne das Thema betreffende Ergebnisse bereits bekannt sind. Von SUTTON et al. (1969) wurden erstmals Berichte über hormonale Veränderungen - was auch Insulin beinhaltet - als Antwort auf Arbeit bekannt, und zwar als Ergebnis athletischen Trainings. 1972 berichteten DIETERLE et al. erstmals, daß Insulin aus der Peripherie während einer

fünfminütigen Arbeit am Handergometer beim Stoffwechselgesunden freigesetzt wird. Dieser Befund wurde sowohl unter kontinuierlicher Glukosebelastung wie im postabsorptiven Zustand erbracht. Diese Insulinspeicherung und -freisetzung wurde von METZGER et al. auch beim Hund nachgewiesen (1972). CARLSON und WAHLQUIST gelang es 1972 dieses Ergebnis am Herzmuskel zu verifizieren und zwar unter basalen Bedingungen. 1975 wiesen diese Autoren dann dieses Insulinspiel am Herzmuskel auch unter kontinuierlicher Infusion von Glukose und Fettemulsion nach. Von RENNIE und JOHNSON (1974) wurde Insulin bei einer längerdauernden Belastung am Fahrradergometer bestimmt. Auch sie konnten die Insulinfreisetzung der Peripherie nachweisen. Hier sollte diese Arbeit anknüpfen.

P a t i e n t e n a u t

Insgesamt standen 46 stationär im Krankenhaus Neuperlach aufgenommene Patienten im Alter von 18 bis 64 Jahren zur Verfügung, die anamnestisch und klinisch weder an einer Myopathie noch -mit Ausnahme der untersuchten Diabetiker- an einer endokrinen oder sonstigen Stoffwechselstörung erkrankt waren. Abgesehen von diesen Grundvoraussetzungen unterlagen die Probanden keinen weiteren Selektionsfaktoren, was auch einschließt, daß sie hinsichtlich ihres Alters, ihres Gewichts und ihres körperlichen Trainingszustandes rein zufällig in ein Kollektiv eingereiht wurden. Unsere Patienten wurden nach verschiedenen Programmen in Gruppen und Untergruppen aufgeteilt:

Gruppe 1: Arbeitsbelastung unter Grundumsatzbedingungen

30 Patienten wurden unter Grundumsatzbedingungen untersucht. Für die erste Teilfrage, die Klärung des basalen Insulinverhaltens unter physiologischen Stoffwechselbedingungen während einer 20-minütigen Arbeit, standen neun männliche Probanden zur Verfügung. Sie galten als Kontrollen und wurden deshalb mit K1 bis K9 abgekürzt.

Mit dem Kontrollkollektiv verglichen wir 21 Patienten mit Diabetes oder diabetesähnlichen Zuständen, so daß sich folgende Untergruppierung ergab:

Diabetes Gruppe A (A1 bis A5) bestand aus fünf männlichen Patienten, die manifest erkrankt waren, aber bisher ausschließlich diätetisch einstellbar waren..

In einer weiteren Diabetiker Gruppe -sechs Männer und eine Frau- sammelten wir die Patienten, deren Krankheit bereits eine Therapie mit oralen Antidiabetika und/oder Insulin erfordert hatte: B1 bis B7. Diese Therapie war 24-36 Stunden vor unseren Untersuchungen abgesetzt worden.

Vier weitere, männliche Patienten, deren Diabetes sich entsprechend der Definition der WHO im subklinischen Stadium befand, faßten wir zur Diabetes Gruppe C zusammen (C1 bis C4).

Betrachteten wir alle 16 Diabetiker vom Erwachsenentyp zusammen, verwandten wir die Bezeichnung Kollektiv D (D1-D16). Schließlich untersuchten wir fünf Probanden -zwei männliche und drei weibliche- mit einem artifiziell diabetesähnlichem Zustand, Patienten die sich seit einem Zeitraum von 4 Tagen bis zu 20 Tagen einer ärztlich kontrollierten Nulldiät unterzogen hatten, abgekürzt als N1 bis N5, Hungerdiabetiker.

Gruppe 2: Arbeitsbelastung während Glukoseinfusion

Bei 16 männlichen Patienten belasteten wir den Stoffwechsel mit einer definierten Menge Glukose, so daß nicht die basalen sondern die stimulierten Insulinkonzentrationen gemessen wurden. Im Gegensatz zu den Probanden der Gruppe 1, deren klinische Diagnose für die Einteilung in ein Kollektiv ausschlaggebend war, teilten wir die Patienten der zweiten Gruppe erst nachträglich entsprechend ihrer Insulinreaktion in folgende drei Untergruppen ein:

Bei sieben Personen war die Insulinantwort stark bis überschießend (Kollektiv S, S1 bis S7).

Bei sieben weiteren Probanden mit mäßiger Insulinausschüttung verwandten wir die Abkürzung T1 bis T7, (Kollektiv T mit träger Insulinantwort.

Da es gefährlich ist, Personen mit unzureichender Insulinproduktion einer Glukosebelastung auszusetzen, besteht das Kollektiv U nur aus zwei Patienten mit fehlender Insulinantwort.

TABELLE 1a

=====

Daten der stoffwechselgesunden Probanden

=====

Nr.	Name	M/F	Alter	Größe	Gewicht	Soll-Gewicht	absolutes Übergewicht	relatives Übergewicht
K1	SCH	M	37	173	77	66	+11	115%
K2	JUP	M	35	197	93	87	+ 6	108%
K3	STD	M	28	181	75	73	+ 2	103%
K4	LET	M	50	162	62	56	+ 6	111%
K5	WEJ	M	60	172	81	65	+16	125%
K6	SOH	M	20	181	81	73	+ 8	111%
K7	EDF	M	32	173	75	66	+ 9	114%
K8	KUA	M	38	178	87	70	+17	124%
K9	HÖH	M	36	178	83	70	+13	119%
$\bar{x}$	(n = 9 M)		37 (J.)	177 (cm)	79 (kg)	69 (kg)	+10 (kg)	114%
S.D.			± 4	± 9	± 9	± 8	± 5	$\pm 8\%$

Diagnosen

- K1 Z.n. BILLROTH II ; Strumaresektion; Hyperlipidämie IV; Leberverfettung
- K2 Cholezystitis; leichter toxisch-nutritiver Leberschaden; Ösophagitis; Gastritis
- K3 primäre, benigne Hypertonie; V.a.cerebrales Anfallsleiden
- K4 Psychovegetatives Syndrom im Magen-Darm-Bereich, (nervöse Diarrhoe)
- K5 Fettleber mit leichter chronischer Begleithepatitis; Schwindel gefäßbedingt
- K6 Hyperkinetisches Herzsyndrom
- K7 Z.n.Viruspneumonie; V.a.Ornithose
- K8 Z.n.Valium- und Äthanolintoxikation; chronischer Alkoholismus
- K9 Chronisch-rezidivierende Pankreatitis bei Alkoholismus; toxisch-nutritiver Leberschaden; Z.n.alter Lungen-Tb; Z.n.Billroth II; Z.n.Cholezystektomie

Beruf

Medikamentation

- | | | |
|----|-------------------------------|---|
| K1 | Krankenpfleger | keine; 1'vor Beginn der Arbeitsphase 2000 I.E.Heparin + 45 IE/min |
| K2 | Mechaniker | Librax 3x1; GelusilLac 7x1; Agiolax |
| K3 | Buchhalter | Zentropil 3x1; Briserin 3x1; |
| K4 | Isolierer | Librax 3x1; |
| K5 | Bauschlosser | keine |
| K6 | Schüler | keine |
| K7 | Landwirtschaftlicher Arbeiter | Klinomycin 2x1; Bisolvon Tinktur; Paracodin und Treupel bei Bedarf; |
| K8 | Installateur | Demetrin 3x1; |
| K9 | Mechaniker | Ceolat 3x1; Novalgin 4x1 Supp.; |

TABELLE 1b

=====

Daten der diätetisch eingestellten Diabetiker

=====

Nr.	Name	M/F	Alter	Größe	Gewicht	Soll-Gewicht	absolutes Übergewicht	relatives Übergewicht
A1	MOE	M	25	175	99	67	+32	148%
A2	HEA	M	29	180	77	72	+ 5	107%
A3	HIA	M	43	177	82	69	+13	118%
A4	HOR	M	41	174	74	67	+ 7	110%
A5	RIJ	M	41	168	84	61	+23	138%
$\bar{x}$	(n = 5 M)		36	175	83	67	+16	124%
S.D.			± 8	± 4	± 10	± 4	± 11	$\pm 18\%$

Diagnosen

- A1 D.m.: 0'/102 mg%; 30'/211mg%; 60'/210mg%; 120'/136mg%; 180'/78mg%; Leberverfettung; Adipositas; Hyperlipidämie IV;
- A2 D.m.: 60'/181mg%; 120'/223mg%; 180'/87mg%; Z.n.Trichloräthylenvergiftung; chronisch vaskuläre Cephalgien;
- A3 D.m.: 0'/107mg%; 60'/235mg%; 120'/237mg%; 180'/186mg%; chronische asthmoide Emphysebronchitis; medikamentös kompensierte Herzinsuffizienz;
- A4 D.m.: 0'/90mg%; 60'/271mg%; 120'/133mg%; 180'/180mg%; Pericholezystitis; Z.n.BILLROTH II; multiple inkomplette Magenerosionen; Hyperlipidämie IV;
- A5 D.m.; Arthritis urica; Nephrolithiasis;

Beruf

Medikamente

- A1 Chemielaborant Zyloric 3x1; Multivitamin 3x1; Kalinor 2x1; Valium 5 1x1;
- A2 Systemingenieur Valium 0,05-0,05-0,10;
- A3 Arbeiter Lanitop 2x1; Klinomycin 2x1; Bricanyl 3x1; Perpyllon 2x1; Bisolvon Tinkt.3x1 Essl.; Adumbran 2x1;
- A4 Metzger keine
- A5 Angestellter keine

TABELLE 1c

=====

Daten der mit Insulin oder Antidiabetika behandelten Diabetiker

=====

Nr.	Name	M/F	Alter	Größe	Gewicht	Soll-Gewicht	absolutes Übergewicht	relatives Übergewicht
B1	EIB	M	40	176	87	68	+19	128%
B2	SCW	M	64	175	72	67	+ 5	107%
B3	MOV	F	45	155	71	49	+22	145%
B4	POJ	M	60	172	63	65	- 2	97%
B5	BLW	M	47	184	105	76	+29	138%
B6	ANA	M	50	190	76	81	- 5	94%
B7	WÜN	M	43	164	51	58	- 7	88%
$\bar{x}$	(n = 6M+1F)		50 (J.)	174 (cm)	75 (kg)	66 (kg)	+ 9 (kg)	112%
S.D.			± 9	± 12	± 17	± 11	± 14	$\pm 23\%$

Diagnosen

- B1 D.m.:frisch diagnostiziert; Blutglucose bis 410mg/100ml
- B2 D.m.:seit 20 Jahren; seit 16 Jahren mit Insulin behandelt; Herzinsuffizienz; Arteriosklerose; Retinopathia diabetica II; diabetische Polyneuropathie
- B3 D.m.:seit einem Jahr; unklare Oberbauchbeschwerden rechts;
- B4 D.m.:seit 10 Jahren insulinpflichtig; Retinopathia diabetica I-II; diabetische Nephropathie;
- B5 D.m.:seit 4 Jahren insulinpflichtig; Blutglucose bis 220mg/100ml; Adipositas; chronische Pyelonephritis; chronische Tonsillitis; Prostatavergrößerung
- B6 D.m.:seit 6 Jahren; Blutzucker bis 350mg/100ml; chronische Pyelonephritis; Z.n.Strumaresektion; Z.n.Cholezystektomie
- B7 D.m.:seit 4 Jahren; Facialisparesie links

Beruf

Medikamentation

- B1 Eisenflechter Euglucon 5 2-0-0; Glucophage ret. 1-0-1; Diabetesdiät 12BE; Heparinisierung;
- B2 Rentner Euglucon 5 2x1; Lanitop 2x1; Isoket ret. 2x1; Glukophage ret.2x1; Diät 12 BE;
- B3 Hausfrau Euglucon 5 1-0-1/2; Silubin 3x1;
- B4 Rentner 8-16 I.E.Depot-CS-Insulin und 8 I.E.Alt-insulin;Diät 12 BE; Lanitop 2x1;
- B5 Kraftfahrer Euglucon 5 2-0-0; Silubin 1-1-1;Reduktionsdiät 8 BE;
- B6 Konstrukteur Euglucon 5 1-1-1; Silubin ret.1-1-1-1; Novothyral 1/2 Tabl.; Ozym 1-1-1;
- B7 Hausmeister Euglucon 5 1-0-0; Diabetesdiät 18 BE;

TABELLE 1 d

=====

Daten der subklinischen Diabetiker

=====

Nr.	Name	M/F	Alter	Größe	Gewicht	Soll-Gewicht	absolutes Übergewicht	relatives Übergewicht
C1	RAN	M	48	182	89	76	+13	115%
C2	BRL	M	50	174	72	67	+ 5	107%
C3	LIF	M	39	177	75	69	+ 6	109%
C4	FIW	M	38	174	72	67	+ 5	107%
$\bar{x}$	(n = 4M)		44	177	77	69	+ 7	110%
S.D.			± 3	± 4	± 8	± 5	± 4	$\pm 2\%$

Diagnosen

- C1 V.a.D.m.: Leberparenchymverfettung mit dichten Lochkernen
- C2 D.m.: 0'/99; 60'/129; 120'/130; 180'/124; (mg/100ml)
Ulcera duodeni et ventriculi; chronische atrophische Gastritis; periphere Durchblutungsstörung
- C3 D.m.: 0'/118; 60'/198; 120'/176; 180'/61 (mg/100ml);
Hyperlipoproteinämie IV; Hyperurikämie
- C4 D.m.: 0'/85; 30'/185; 60'/217; 120'/122 (mg/100ml)
Hyperlipoproteinämie IV; leichte, labile, arterielle Hypertonie

Beruf

Medikamentation

- C1 Schlosser Terravenös 1 Amp.; Vibramycin 1 Kap.;
Bisolvon Tinkt.; Paracodin Tropf.
- C2 Eisenflechter Dusodril ret. 3x1; Biogastrone 2-2-2;
Solu-Gastril 5x1 Btl.
- C3 Maler Zyloric 1-1-1; Uricovac 1 Tabl.;
Limbatriil 1-1-2; Thioctacid 1 Amp.
- C4 Ingenieur Tavegil 2x1 Tabl.:

TABELLE 1e

=====

Daten der Nulldiät - Patienten

=====

Nr.	Name	M/F	Alter	Größe	Gewicht vor/jetzt Null.	Soll- Gewicht	absol. Übergewicht	relat. Übergewicht	Null- diät seit	
N1	EBE	F	59	148	101/90	43	+47	209%	4 Tg.	
N2	HOC	F	28	164	118/109	58	+51	188%	15 Tg.	
N3	SCA	F	42	168	84/75	61	+14	123%	19 Tg.	
N4	BRG	M	31	176	120/86	69	+17	125%	21 Tg.	
N5	KLL	M	55	161	120/107	55	+52	195%	18 Tg.	
$\bar{x}$	(n = 3F+2M)			43(J.)	164 (cm)	101kg	57 (kg)	+33kg	162%	15 Tg.
S.D.			+15	+ 9		+20	+ 9	+19	+40%	

Diagnosen

- N1 Manifeste D.m.; diabetische Neuropathie; Glaukom; Diarrhoe
 N2 Alimentäre Adipositas, Lat. Niereninsuffizienz z.m. Pyelonephritis
 N3 Subklinische D.m.; Labiler Hypertonus
 N4 Manifeste D.m.; Leberverfettung; Hypertonie
 N5 Manifeste D.m.; Spondylosis deformans; Psoriasis; Hyperlipoproteinämie; Nephrolithiasis; Nabelhernie

Beruf

Medikamentation

- N1 Hausfrau
Rentnerin
Novodigal; Multivitamin-Präparate; Thylon
Uricovac; 1 Tbl. Glutril, 1 Drg. Silubin ret.
- N2 Sekretärin
Zyloric; Eunova;
- N3 Wirtschafts-
leiterin
Vimagna; Fenistil; Ingelantpuder
- N4 Kaufmann
Uricovac; Kalinor-Brause; Xam;
- N5 Angestellter
Rentner
Theolanitop; Nicene; Xam; Atheroprone;
Regelan; Isoket; Uricovac; Glukophage

TABELLE 1 f

=====

Daten der Probanden mit Glukosebelastung, Kollektiv S

=====

Nr.	Name	M/F	Alter	Größe	Gewicht	Soll-Gewicht	absolutes Übergewicht	relatives Übergewicht
S1	TAD	M	46	167	85	60	+25	141%
S2	WOR	M	43	180	84	72	+12	117%
S3	SPK	M	51	172	91	65	+26	140%
S4	KOG	M	32	172	78	65	+13	120%
S5	ERG	M	33	161	74	55	+19	135%
S6	LOM	M	18	173	60	66	- 6	91%
S7	RIF	M	55	166	73	59	+14	124%
$\bar{x}$	(n = 7 M)		40 (J)	170 (cm)	78 (kg)	63 (kg)	+15 (kg)	138%
S.D.			± 13	± 6	± 10	± 6	± 11	$\pm 11\%$

Diagnosen

- S1 Hypertonie
 S2 Hyperuricämie; Hyperlipoproteinämie IIb; V.a.latenten D.m.;
 S3 D.m.; Adipositas; Kreislaufkollaps
 S4 Herzneurose
 S5 akute Gastritis
 S6 D.m.; seit 12 Jahren
 S7 Vegetative Dysregulation

Beruf

Medikamentation

- S1 Mechaniker Lanitop 2x1 Tabl.; Briserin
 S2 Kaufmann
 S3 Gärtner Lanitop 2x1 Tabl.; Modurat 2x1; Uricovac 1x1
 S4 Maler
 S5 Dekorateur Buscopan 3x1; Mogadan bei Bedarf
 S6 Banklehrling 15 BE; bisher kein Insulin und keine oralen
 Antidiabetika
 S7 Lagerist Novænin 3x15 Tropf

TABELLE 1g und TABELLE 1h

=====

Daten der Probanden mit Glukosebelastung, Kollektive T und U

=====

Nr.	Name	M/F	Alter	Größe	Gewicht	Soll-Gewicht	absolutes Übergewicht	relatives Übergewicht
T1	BEM	M	42	181	91	73	+18	124%
T2	BUA	M	43	165	73	58	+15	126%
T3	MOO	M	46	161	60	55	+ 5	109%
T4	OSP	M	37	170	65	63	+ 2	103%
T5	MAH	M	41	176	76	68	+ 8	112%
T6	MAA	M	42	168	62	61	+ 1	101%
T7	LIA	M	34	171	69	64	+ 5	107%
$\bar{x}$	(n = 7M)		41 (J.)	170 (cm)	71 (kg)	63 (kg)	+ 9 (kg)	111%
S.D.			± 4	± 7	± 10	± 6	± 6	$\pm 10\%$

Diagnosen

- T1 Subklinischer D.m.; Diabetes insipidus
 T2 Coma diabeticum; D.m. frisch entdeckt; Pseudoperitonitis diab.
 T3 D.m.; Polyneuritis alcoholica; Hypertonus; Hyperlipidämie;
 V.a. Cirrhose
 T4 Psychische Labilität; Paroxysmale Tachykardie
 T5 Z.n. akuter Bronchitis
 T6 V.a. latenten D.m.; V.a. Cholelithiasis; Amaurose links
 T7 V.a. D.m.; posttraumatische Epilepsie; Z.n. Polytrauma mit
 Miktionsbeschwerden

Beruf

Medikamentation

- T1 Mechaniker
 T2 Arbeiter
 T3 Kraftfahrer
 T4 Vertreter
 T5 Bauarbeiter
 T6 Kraftfahrer
 T7 Metzger
- Diabetoral Kps. 2x1; Zyloric 1-1-1
 Bisolvon 3x1; Perphyllon 3x1; Buscanyl 3x1; Paracodein 20 Tropf.
 Zentropil 1-1-1; Mogadan

U1	URS	M	53	172	75	65	+10	115%
U2	MEJ	M	26	171	67	64	+ 3	105%
$\bar{x}$	(n = 2M)		40 (J.)	172 (cm)	71 (kg)	65 (kg)	+ 7 (kg)	110%

Diagnosen

- U1 D.m. frisch entdeckt; toxisch-nutritiver Leberschaden
 U2 D.m. frisch entdeckt; Magenblutung bei MALLORY-WEISS

Beruf

Medikamentation

- U1 Montagehelfer
 U2 Mechaniker
- 12 BE; Silubin ret. 1-1-1; Rastinon 0.5
 18 BE; vor 24h 40 IE Kombinsulin; Solu-gastril 6x1 Btl.

Kritische Betrachtung der Kollektive

a. Störfaktoren für die Insulinuntersuchung

In den vergangenen Jahren wurde von einer Reihe von Krankheiten nachgewiesen, daß sie ein pathologisches Insulinverhalten bedingen. Dies wollten wir so weit wie möglich ausschließen, indem wir Patienten mit solchen Krankheiten nicht in unsere Kollektive einreichten. Abnormes Insulinverhalten wurde beispielsweise bei akuter und chronischer Pankreatitis beschrieben (OHLSEN 1967), bei akuter Hepatitis (NIESCHLAG 1970) und Leberzirrhose (COLLINS 1970), bei chronischer Niereninsuffizienz (KOKOT 1973) und Urämie (LOWRIE 1970) aber auch bei Patienten nach Myokardinfarkt (TZAGOURNIS 1967) und mit Erkrankungen peripherer Gefäße (GHILCHIK und MORRIS 1971a und 1971b). Berücksichtigen müßte man eventuell die Patienten mit Leberzellverfettung (K1, K2, K5, K9, A1 und U1), da bei dieser Krankheit - zumindest bei mittel- und hochgradiger Verfettung - pathologisches Seruminsulinverhalten beschrieben ist (HAUSMANN 1973).

b. Das mittlere Alter

Die Kontrollpatienten unterschieden sich signifikant von den älteren Patienten der Diabetiker B (50 Jahre ± 9 gegenüber 37 ± 4). Die anderen Kollektive der Grundumsatzuntersuchungen lagen im Mittel des durchschnittlichen Alters zwischen diesen Extremen: Kollektiv A: 36 Jahre, Kollektiv C: 44 Jahre, Kollektiv N: 47 Jahre. Die Kollektive S (38 Jahre), T (43 Jahre) und U (40 Jahre) liegen ziemlich in der gleichen Größenordnung.

c. Das mittlere Gewicht

Wie bei der heutigen Überernährung der Bevölkerung zu erwarten, waren alle Kollektive im Durchschnitt übergewichtig. Dabei unterschieden sich die Kollektive K (114%), A (121%), B (112%), C (110%) und T (110%) nur wenig. Auffällig erhöht war das mittlere Gewicht des Kollektivs S mit 138% im Vergleich zum Kollektiv T (111%) sogar signifikant.

d. Die Verteilung von Männern und Frauen

Läßt man das Kollektiv N außer Betracht, das 3 Frauen enthält, so handelt es sich um Untersuchungen von männlichen Probanden. Die einzige weitere Frau unter 40 Männern befindet sich bei B.

M e t h o d e n

1. Der allgemein gültige Versuchsaufbau und die jeweiligen Modifikationen

a. Bei allen Probanden angewandter Versuchsaufbau

Jeweils an einem Mittwochmorgen wurden die Probanden nach einer ungefähr 15-stündigen Nahrungskarenz und einem striktem Rauchverbot in Ruhelage in ein separates Untersuchungs-zimmer gefahren. Jegliche Therapie war schon 36-48 Stunden vorher abgesetzt worden. Eine starre arterielle Verweilkannüle wurde in die arteria brachialis des arbeitenden oder auch des kontralateralen Unterarms eingelegt. Ein Polyäthylenkatheter wurde so weit wie möglich retrograd in eine tiefe Kubitalvene eingeführt. Danach durften sich die Probanden 30 Minuten entspannen, bis wir mit der Abnahme von Ruhewerten die Untersuchung begannen.

b. Die Handergometer-Technik

Nach der Entspannungs- und der Ruhephase verrichteten alle Probanden mit dieser Unterarmmethode eine 20-minütige Arbeit, deren Leistung jeweils zum Blutentnahme-Zeitpunkt -also in 5-minütigen Abständen- vergleichbar festgehalten werden konnte. Eine ausführliche Beschreibung, die exakte Ableitung der Berechnungsformel für die Leistung -ausgehend vom 1.Hauptsatz der Thermodynamik- sowie Literatur findet sich bei BACHL (1976). Nach der darin abgeleiteten Formel entspricht ein einmaliges Zusammendrücken des hohlen Gummiballes mit einem Druck von 0.15 kp/cm^2 einer Arbeit von 1.5 Ws. Die durchschnittlich erreichte Gesamtleistung von $8-9 \frac{\text{kpm}}{\text{min}}$ kann mit WAHREN (1970) als mäßig schwere Arbeit bezeichnet werden, da schon eine Steigerung auf das Doppelte innerhalb drei bis sechs Minuten zur Erschöpfung führen würde.

c. Der Versuchsaufbau bei Arbeit unter Grundumsatzbedingungen

Er trifft für die Kontrollen, die Diabetiker und Hungerstoffwechselpatienten zu. Nach Abnahme zweier Ruhewerte, die als -10' und 0' bezeichnet wurden, verrichteten die Probanden die beschriebene 20-minütige Arbeit, während der in 5-minütigen Abständen vier Arbeitswerte abgenommen wurden (5', 10', 15' 20'); schließlich wurden zur Untersuchung der Erholungsphase eine Abnahme bei 26' und 32' vorgenommen. (Vgl.Abb.1a.)

d. Der Versuchsaufbau für Arbeit am Handergometer unter kontinuierlicher Glukosebelastung

Nach der Äquilibrierungsphase genügte es einen basalen Ruhewert abzunehmen (-45'), der den Werten -10' oder 0' wie unter c. beschrieben, entspricht. Darauf erfolgte sofort ein einmaliger Injektionsstoß von 50-%iger Glukose in den venösen Katheter, dessen Menge in Gramm sich nach der Formel: 0.4 mal Körpergewicht in Kilogramm berechnete. Anschließend wurde mit der bereitgestellten Infusionsmaschine kontinuierlich 0.72g Glukose pro kg Körpergewicht als 50-%-ige Glukoselösung infundiert. Diese intravenöse Glukoseverabreichung besitzt für unsere Fragestellung gegenüber der oralen Applikation den Vorteil, Insulin nicht über die sogenannte entero-insulinäre Achse -also über eine Inkretion lokaler Hormone des Verdauungsapparates wie Pankreozymin, Sekretin etc.- zu stimulieren.

Der Stoffwechsel der ruhenden Muskulatur unter der geschilderten Glukosebelastung wurde somit bei -30', -15' und 0' untersucht. Nach der Blutentnahme zum Zeitpunkt 0' begann der Proband sogleich mit möglichst gleichmäßiger Anstrengung 20 Minuten lang zu arbeiten. Durch viermalige Blutgewinnung während der Arbeitsphase (5', 10', 15', 20') können wir Aussagen über die momentane Situation des arbeitenden Muskelgewebes unter definierter Glukosebelastung machen. Abschliessend wurden auch bei diesem Versuchstyp zwei Erholungswerte (26', 32') abgenommen. Diese Beschreibung trifft für die Kollektive S, T und U zu. (Vgl.Abb.1b.)

ABB.1a: Schematischer Versuchsaufbau bei den Kollektiven K, A, B, C und N

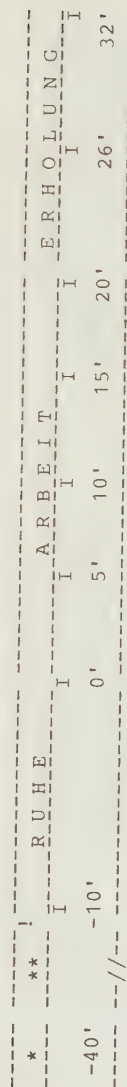
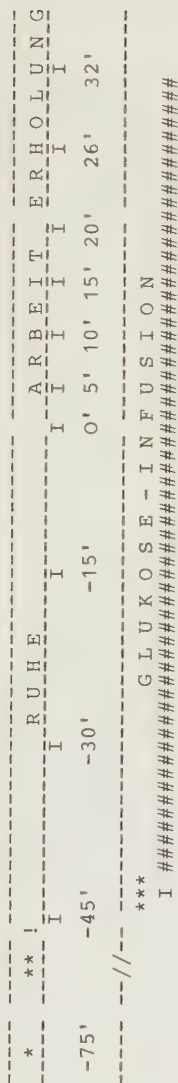


ABB.1b: Schematischer Versuchsaufbau bei den Kollektiven S, T und U



Erklärungen: * = Legen der arteriellen Kanüle und des venösen

Katheters

** = Äquilibrationsphase (30 Minuten)

*** = i.v. Glukoseinjektion

= Glukoseinfusion

! = Applikation des Xenon¹³³

I = Blutentnahme

e. Gewinnung und Aufbewahrung der Seren

Besonders nützlich erweist sich die oben geschilderte Versuchsanordnung während der Arbeitsphase, da es jederzeit möglich ist Blutproben zu entnehmen, ohne den Probanden bei seiner Arbeit zu stören. An den geplanten und mit Stoppuhr kontrollierten Zeitpunkten wurden streng gleichzeitig arterielles und venöses Blut in Glasspritzen langsam abgezogen und in bezeichnete Glasröhrchen vorsichtig umgefüllt. Nach der Untersuchung zentrifugierten wir alle Blutproben sofort bei Zimmertemperatur mit 3000 g 15 Minuten lang. Genau nummeriert froren wir etwa 1ml Serum für den IMI-Assay bei ungefähr -27°C ein. Bis zum Bearbeitungstag durften die Seren nicht mehr aufgetaut werden.

2. Die Messung der Muskeldurchblutung

Eine Reihe von mechanischen, elektrischen, thermometrischen, elektromagnetischen und Verdünnungsmethoden wurden zur Bestimmung der muskulären Durchblutung (MBF) entwickelt. Wir verwendeten die von LINDBERG und LASSEN 1964 erstmals beschriebene Methode der Xenon¹³³-Clearance. Sie beruht auf der Ausschwemmung einer bestimmten Menge injizierten Xenon¹³³, das als Gamma-Strahler mit einem GEIGER-Zähler meßbar ist. Eine Beschreibung der exakten Durchführung sowie der physikalischen Berechnung der MBF erübrigt sich, da schon viele Veröffentlichungen darüber vorliegen (z.B. DIETERLE, C. 1970 und BACHL 1976).

3. Mögliche Störfaktoren der radioimmunologischen Insulinbestimmung

a. Serum- oder Plasmainsulin?

Diese Frage warf HENDERSON (1970) auf, der durch eigene Untersuchungen und durch Vergleiche aus 22 Publikationen zu der Empfehlung kam, Insulin aus dem Serum zu bestimmen. OROSZ (1973) zweifelte diesen Vorschlag an, als er berichtete, daß nicht im heparinisierten Plasma sondern im Serum höhere Werte zu finden wären. CANTRELL (1972) kam zum gleichen Ergebnis. Schließlich berichteten FELDMAN und CHAPMAN 1973 nach detaillierten Untersuchungen, daß sich Serum- und Plasmainsulin individuell unterschiedlich verhalten könnten: teils fanden sie signifikant niedrigere, teils signifikant höhere Plasma- als Serumspiegel. Wir bestimmten Seruminsulin.

b. Der Einfluß hämolytischen Serums

Seit CANTRELL (1972) ist geklärt, welcher störende Einfluß eine Hämolyse auf einen Insulin-RIA ausübt. Deshalb legten wir darauf Wert, Hämolysen unserer Seren zu vermeiden: die Blutaspiration erfolgte sehr langsam und langes Stehen der Seren über die technisch notwendige Zeit vermieden wir. In Einzelfällen, wo trotzdem Hämolysen eintraten, mußten diese Proben verworfen werden, da sie offensichtlich erniedrigt waren. Eine Erklärung hierfür bietet die Untersuchung BRODALs (1971) über die Denaturierung des Insulinmoleküls durch Erythrozytenenzyme. Ein Temperatureinfluß auf diese Insulinzerstörung ist durch CANTRELL (1972) beschrieben. Im Gegensatz zu diesem Autor hielten wir unsere Seren grundsätzlich kühl. Weiter nahmen wir an, daß mit bloßem Auge nicht erkennbare Hämolysen -also solche mit Konzentrationen unter 0.5 g/l- keinen störenden Einfluß ausüben.

c. Der Einfluß eines Insulintagesrhythmus

FAIMAN (1967) berichtete weder bei Stoffwechselgesunden noch bei Diabetikern zirkadiane Schwankungen der basalen IMI-Spiegel gefunden zu haben. FREINKEL (1968) zeigte, daß während des Fastens die Insulin-Konzentrationen morgens 7-8 Uhr signifikant höher lagen als nachmittags. Diesen Befund bestätigten MALHERBE et al. (1969) bei Untersuchungen postprandial. Nach oraler Glukosebelastung beschrieb SENSI (1970) nachmittags wesentlich trägere Insulinreaktionen als vormittags. Ähnliche Schlüsse zogen JARRET (1972) und CARROLL (1973), die morgens die stärkeren Insulinantworten fanden und zwar teils doppelt so hoch wie zu anderen Zeitpunkten. MATZKIES (1974) berichtete, daß abends entsprechend einer höheren Glukosekonzentration nach oraler Belastung signifikant mehr Insulin bereitgestellt wurde als morgens. Unsere Untersuchungen wurden ausnahmslos vormittags annähernd zur gleichen Zeit durchgeführt.

d. Nach PRUETT (1970) bewirken unterschiedliche Diäten -es wurden Normaldiät mit fettreicher und kohlenhydratreicher Diät verglichen- keinen Einfluß auf die basalen Plasma-IMI-Konzentrationen weder in Ruhe noch in einer Erholungsphase nach einer sechsständigen Arbeit. Die Probanden erhielten 14-16 Stunden vor der Untersuchung keinerlei Nahrung, noch kalorienhaltige Getränke.

e. Andere Störfaktoren

Darüberhinaus wurde auf eine möglichst gleiche Behandlung der Probanden geachtet. Beispielsweise durften Patienten mit harmlosen Virusinfekten nicht am Versuch teilnehmen.

4. Die Insulin - Bestimmung

a. Die chemische, die biologische und die radioimmunologische Bestimmungsmethode

Eine chemische Nachweismethode versagt aus zwei Gründen: erstens sind Hormone wegen ihrer geringen Konzentration im Serum chemischen Methoden nur schwer zugänglich, zweitens wäre es wegen des geringen chemischen Unterschieds zwischen Insulin und den $6 \cdot 10^6$ -fach höher konzentrierten Serumproteinen unmöglich, Insulin zu isolieren.

Die Idee, Insulin indirekt an seiner Wirkung auf den tierischen Organismus zu bestimmen, führte 1950 erstmals zum Erfolg. Diese biologischen Methoden wurden anfangs mit Ratten oder Mäusen durchgeführt. Später gelang es, den blutzuckersenkenden Effekt des Insulins auch am isolierten Rattenzwerchfell oder -fettgewebe nachzuweisen.

Erst mit Einführung der radioimmunologischen Methode stand eine äußerst spezifische, zugleich aber auch empfindliche Bestimmungstechnik zur Verfügung. Die Pionierarbeiten auf diesem Gebiet von YALOW und BERSON bauten auf der Erfahrung des praktischen Mediziners auf, daß mit Insulin therapierte Patienten Antikörper dagegen entwickelten. Die Immunpräzipitation als Ursache der Insulinresistenz wurde schon von LERMAN 1944 untersucht. Auf die Erkennung der Insulinantikörper folgte deren Herstellung. Der letzte Schritt, die geniale Idee der Verwendung dieser Antikörper verknüpft mit der Isotopenverdünnungsmethode führte zum Radioimmunoassay. Er brachte dann die "Informations-explosion" (YALOW) mit sich. (Literatur bei YALOW 1973)

In den vergangenen 15 Jahren entwickelten viele Autoren eine Flut von neuen oder modifizierten Insulin-RIAs. Dabei stellt die Trennungsmethode neben Inkubationsvolumen, -temperatur und -dauer den wesentlichsten Unterschied dar. Einen chronologischen Überblick der wichtigsten Variationen bietet Tabelle 2.

TABELLE 2

=====

Zusammenstellung radioimmunologischer Insulinbestimmungen

=====

Autor	Jahr	Methode, Modifikation
YALOW & BERSON	1959	Chromatoelektrophorese
GRODSKY & FORSHAM	1960	Präzipitation mit Na-Sulfat
MEADE & KLITGAARD	1962	Ionenaustauscher
GOETZ & GREENBERG	1962	Immunpräzipitation mit Zentrifugation
MORGAN & LAZAROW	1962	Immunpräzipitation mit Doppelantikörper, Zentrifugation
HALES & RANDLE	1963	Immunpräzipitation mit Doppelantikörper, Filtration
HEIDEMANN	1964	Polyacryamidgel-Elektrophorese
GENUTH	1965	Gelfiltration
HERBERT	1965	Dextran-Holzkohle
MELANI	1965	Immunpräzipitation mit Doppelantikörper, Agarelpho, Anionenaustauscher
WELBORN & FRAZER	1965	Immunpräzipitation
ROSSLIN, YALOW & BERSON	1966	Mg-Silikat, Talc, Quiso
HEFING	1966	Präzipitation mit Äthanol
WIDE & PORATH	1966	Sephadex, Immunosorbent
MITCHEL	1967	Enzymatische Proteolyse mit Trichloressigsäure
ØRSKOV	1967	Dochtchromatographie
CATT & TREGGAR	1967	Antikörper-beschichtetes Material
KEANE	1968	Dextran-Holzkohle
MILES	1968	Radioaktiv markierter Ak
ZAHARO & BECK	1968	Zellulosestaub
EKINS	1968	Uncoated charcol
MAKULU	1969	Chemische Präzipitation mit Alkohol
QUABBE	1969	Immunpräzipitation
POZANANSKI	1969	Dextran-Holzkohle
TELLIB	1969	Dextran-Holzkohle
CESKA	1970	Solidphase
NIEMANN	1970	Anionenaustauscher
COLT & BECKER	1971	Ak-beschichtetes Material
ERHARDT	1971	Säulenchromatographie
STAHL	1971	Dioxan
WOMBACHER	1971	Pronase, Proteolyse
WRIGHT & MAKULU	1971	Rücktitration, Alkohol
CRESTO	1972	Dextran-Holzkohle
ALBANO	1972	Holzkohle
ULRICH	1972	Dochtchromatographie

b. Das Prinzip des RIA

Die fundamentale Voraussetzung für immunologische Bestimmungen besteht in einem für die unbekannte Substanz spezifischen Antikörper. Um ihn konkurrieren eine nicht bekannte Menge Insulin eines Serums sowie eine zusätzlich hinzugegebene, konstante Menge radioaktiv markiertes Insulin. Die entstandenen Insulin - Insulinantikörper - Komplexe werden ausgefällt und anschließend von den noch frei gebliebenen Insulinmolekülen getrennt. Je höher die Konzentration des natürlichen Insulins in der Probe war, desto weniger markiertes Insulin findet sich im Präzipitat. Die Radioaktivität kann mit Zählgeräten gemessen werden.

c. Vergleich radioimmunologischer Bestimmungsmethoden

Ohne besondere Ergänzungen wendeten HALES und RANDLE das oben beschriebene Prinzip in ihrer frühesten Methode an (A 1973). Die verbesserte Methode B vermied Kreuzreaktionen mit anderen Serumbestandteilen, indem ein Doppelantikörper schon im voraus ausgefällt wurde. Die Möglichkeit einen löslichen Antikörper mit einem zweiten Antikörper zur Präzipitation zu bringen, war seit SKOM & TALMAGE bekannt (1958). Es war das Verdienst von HALES und RANDLE sowie von MORGAN und LAZAROW dieses Verfahren mit dem RIA zu verknüpfen.

Eine weitere Verbesserung brachte die Einführung einer Inkubationszeit. Dem markierten Insulin wurde später als dem Seruminulin die Möglichkeit gelassen, sich mit dem Antikörper zu verbinden (Methode C). Damit wurden Sensibilität und Spezifität erhöht. Hierauf baute sich unser im folgenden beschriebener Assay auf.

Die vergleichenden Untersuchungen von GOTTMANN (1973) zwischen Doppelantikörpermethode und anderen üblichen Techniken der HGH-Bestimmung (z.B. Holzkohlen- oder Solidphase-Technik) ließen bezüglich Sensibilität und Präzision die von uns bevorzugte Methode als die brauchbarere erscheinen. Hinsichtlich einer einfacheren Handhabung und eines größeren Meßbereiches schnitt die Solidphase-Technik besser ab.

Die hier nicht beschriebene Technik lese der Interessierte bei SKELLY (1973) nach.

d. TABELLE 3

=====

Apparate und Reagentien

=====

Für die Pufferzubereitung

- Na-Dihydrophosphat (mit 2 Wassermolekülen) MERCK 67517
- Thiomersal (=Na-Äthylmercurithiosalicylat) SCHUCHARDT
- Serumalbumin (vom Rind, trocken, elektrophoretischer
Reinheitsgrad 100%) BEHRING/Marburg ORHD

- 2n-Natriumlauge MERCK 9136

- Deionisiertes Wasser (evt. Aqua pro injectione)

- Natriumchlorid (reinst) MERCK 6404

- pH-Meter WTW/Weilheim

- Präzisionswaage

- Rührer, Rührfisch

Für den Assay an sich

- Puffer A und Puffer B selbst bereitet

- Standardinsulin (menschlich, definierte Menge, aus
dem kommerziellem Kit)AMERSHAM IM.38

- Insulin-Binding-Reagent AMERSHAM IM.39 od.WELLCOME

- Hämacceel BEHRING/Marburg (Gelatine-Abkömmling, MG 14000)

- Bromphenol MERCK

- Übliche Glas-und Eppendorfpipetten

- VORTEX-Junior Mixer

- Probe-Reagenz-Dosierer (halbautomatisch) NETHELER&HINZ

- Proben-Ständer (für 100 Stück) nach HENNER

- Präzisionsmillimeterspritze HAMILTON/Whittier Ca.USA

- Eisbad

- Membrabfolien SARTORIUS/Göttingen S11200

- Mikrofiltrationsanlage nach BOTTERMANN & HENNER (Vaku-
umflaschen, Fritten, 25-Canal-Micro-Pumpe ISMATEC/
Zürich, Kanülen-Rechen, Polyäthylenschläuchchen
TECHNICON 0.0625 Transmission 116-05280)

- Cornwall-Spritze BECTON/DICHISON

- Kühlraum

- 25mm-Polyröhrchen

- Gammazähler Gammaguard TRACERLAB S.A./Köln

e. Die Puffer-Zubereitung

Im allgemeinen dissoziieren Antigen-Antikörper-Komplexe unabhängig vom pH in einem Bereich von 7,4 - 8,6. Für unsere Bestimmungen verwandten wir einen 0,04 M, thiomersalhaltigen Phosphatpuffer mit einem pH von 7,4 und einem hohen Gehalt an Rinderalbumin. Bei der Erprobung zahlreicher Puffer erwies sich dieser als der Beste. Der pH wird auf 7,4 eingestellt (Isotonie) um möglichst natürliche Bedingungen nachzuahmen. Das quecksilberhaltige und somit giftige Thiomersal ($C_9H_{10}HgO_2S_2$, MG = 405) wird in geringer Menge (0,6mM) wegen seiner stark bakteriziden Wirkung zugegeben. Der hohe Rinderalbuminanteil (0,5%) reduziert die Adsorption von Insulin an Kunststoff und Glas. Bei 4°C ist der Puffer monatelang haltbar.

Praktische Durchführung Puffer A

Um einen Liter Puffer A zu erhalten wiegt man auf der Präzisionswaage 6,2g $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$, 0,25g Thiomersal und 5,0g Rinderalbumin ab. In ein 100ml Gefäß löst man diese Substanzen mit deionisiertem Wasser mittels eines Rührfisches auf. Dabei muß behutsam vorgegangen werden, damit das Albumin nicht schäumt. Die Lösung muß wegen des schwer löslichen Thiomersals lang gerührt werden. Wenn sie klar ist, fügt man in Milliliter-Portionen 2n-Natronlauge unter laufender pH-Kontrolle und dauerndem Rühren zu. (Nach etwa 12ml Vorsicht, damit nicht plötzlich übertitriert wird). Ist der pH exakt eingestellt, wird auf 100ml aufgefüllt. Puffer A dient für alle Zubereitungen, bei denen keine Isotonie erforderlich ist, also für die Tracer-Zubereitung.

Praktische Durchführung Puffer B

Für die Herstellung von Standardlösungen sowie eventuell für Verdünnungen von Serum der Probanden wird durch Zugabe von 9,0g NaCl pro 1l der osmotische Druck des Plasmas nachgeahmt. Entweder man bereitet wie oben geschildert Puffer A, fügt aber vor dem Auflösen noch 9,0g NaCl hinzu und erhält so eine größere Menge, die nur für häufige

Bestimmungen nützlich ist, oder man nimmt vor jedem Assay eine gewisse Menge (z.B. 100ml) Puffer B und fügt die entsprechende Menge (z.B. 0,9g) NaCl nachträglich hinzu.

Der hochproteinhaltige Puffer C kam nicht zur Anwendung und wurde durch Hämacceel ersetzt.

f. Die Bereitung der Standardlösung

Zur Erfassung der Abhängigkeit von Insulin-Konzentration und prozentualer Bindung an den Antikörper wird mit bekannten Seren eine Eichkurve erstellt. Der von der Fa. AMERSHAM erhältliche Standard besteht aus einer angegebenen Menge gefriergetrockneten Humaninsulins, das nach dem Dreisatz auf die gewünschte Konzentration verdünnt wird. Die von uns als höchster (200 μ E/ml) und niedrigster (5 μ E/ml) Standard gewählten Werte wurden nie über- bzw. unterschritten. Betrachtet man eine der somit erstellten Eichkurven (Abb. 2), erkennt man, daß sie im Bereich von 10 - 80 μ E/ml am steilsten und somit am präzisesten ist. Doch auch in den Bereichen 5 - 10 μ E/ml ist die Kurve ausreichend gerade.

Praktische Durchführung

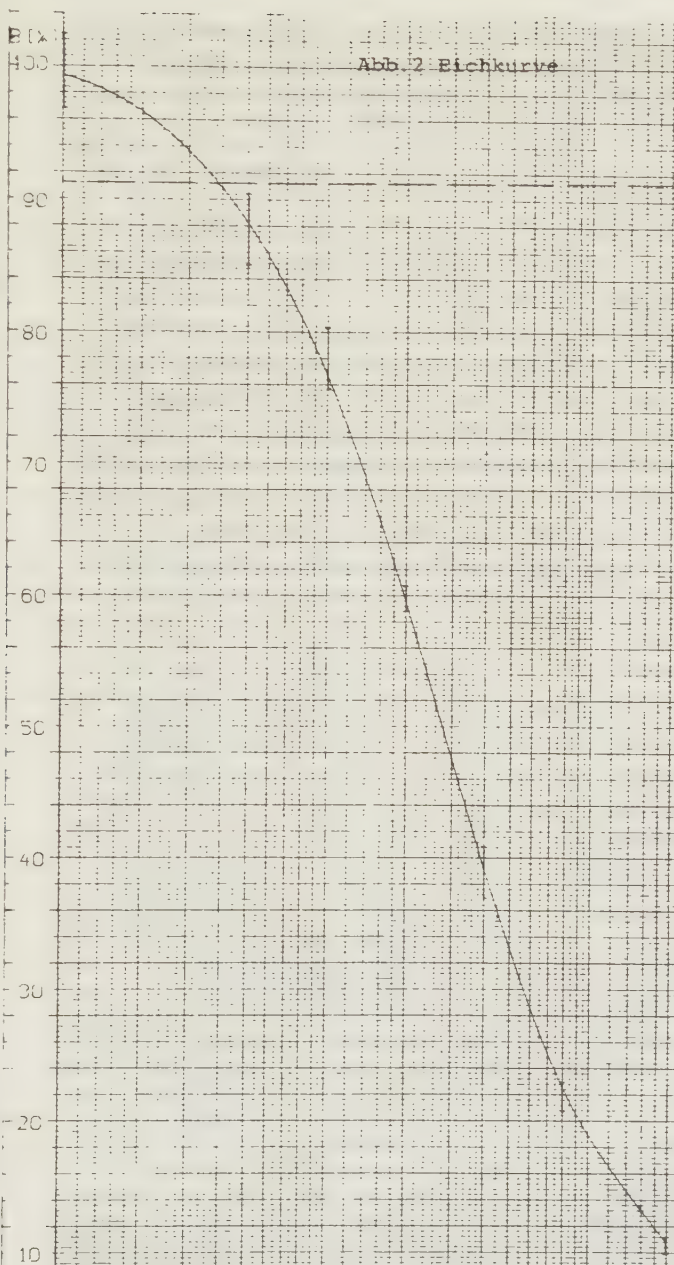
Aus drei Gründen empfiehlt es sich nicht für jeden Ansatz eine eigene Eichkurve zu erstellen. Besser man schafft sich einen "Eichkurvenvorrat":

1. Man kann die Eichkurve vor der ersten Anwendung kontrollieren um sicher zu gehen, daß wertvolle Probandenserien nicht umsonst aufgetaut und verbraucht werden, wenn sich ein Pipettierfehler eingeschlichen hat.
2. Ein zwischen verschiedenen Eichkurven möglicher Inter-assayfehler wird durch identische Standardwerte gemindert.
3. Zusätzlich würde ein Arbeitstag zu lang werden (bis zu 13 h) hätte man keine Standardlösungen bereit.

Zur Herstellung der einzelnen Standardlösungen erstellt man eine Serienverdünnungsreihe:

-Gewünscht wird eine Konzentration von 200 μ E/1ml: stehen uns z.B. 2730 μ E aus dem Kit zur Verfügung, dann verdünnen wir den Humanstandard mit 13,65ml Puffer B. Der Puffer sollte in 4-5 Schritten zugegeben werden, um das Fläschchen möglichst genau auszuwaschen.

Boydell M. A. et al.



- Nun wird eine Konzentration von $160\mu\text{E/ml}$ erstellt: nehmen wir $1,6\text{ml}$ aus der $200\mu\text{E/ml}$ -Verdünnung, so besitzen wir $320\mu\text{E}/1,6\text{ml}$. Fügen wir $0,4\text{ml}$ Puffer B hinzu, ergibt sich eine Konzentration von $320\mu\text{E}/2\text{ml} = 160\mu\text{E/ml}$.
 - Um $80\mu\text{E/ml}$ zu erhalten nehmen wir 1ml der $160\mu\text{E/ml}$ -Verdünnung und 1ml Puffer B.
 - Analog dazu entnehmen wir für alle weiteren Standardwerte ($40, 20, 10, 5, \text{evt. } 2,5\mu\text{E/ml}$ von der nächsthöheren Lösung und Puffer B im Verhältnis $1:1$.
- Um 10-15 Eichkurven auf einmal herzustellen, führen wir alle Schritte mit der fünffachen bzw. -bei Verwendung von zwei Standardfläschchen- mit der zehnfachen oben angegebenen Menge durch. Genau markiert sind die Standardlösungen bei -25°C tiefgefroren monatelang jederzeit abrufbar. Jedoch darf eine Eichkurve nur einmal aufgetaut werden. Eine Überprüfung der Richtigkeit der eingefrorenen Eichkurven mit Kontrollseren ohne Bestimmung von Probandenseren empfiehlt sich.

g. Der Antikörper

Antikörper sind Glykoproteide mit der Fähigkeit sich an determinante Gruppen von Antigenen zu binden. Wir verwendeten einen Doppelantikörper, der folgendermaßen gewonnen wird: Meerschweinchen, denen mehrmals kristallines Schweineinsulin als FREUD'sches Adjuvans injiziert wurde, entwickeln dagegen Antikörper. Nach dem gleichen Prinzip gewinnt man aus dem Blut von Kaninchen Antikörper gegen die Meerschweinchenserum. Beide Antikörper läßt man 18 Stunden bei 4°C miteinander präzipitieren. Dieses Präzipitat wird gefriergetrocknet und ist von AMERSHAM als Insulin-Binding-Reagent erhältlich. Vor der Gefriertrocknung wird es noch mit dem Chelatbildner EDTA (0.03M) in Puffer A gelöst, mit dem Ziel etwaige Störungen durch Schwermetallionen zu umgehen.

Praktische Durchführung

Am Ansatztag wird das IBRkurz vor Arbeitsbeginn mit $8,0\text{ ml}$ deionisiertem Wasser pro Fläschchen aufgelöst. Wegen der

angeblichen Wärmelabilität des Antikörpers wird er während des gesamten Ansetzens in einem Eisbad gekühlt.

h. Das "Ansetzen"

In der Laborsprache ist damit kurz das Zugabe von Antikörper zum Probandenserum mit dem unmarkierten Antigen gemeint.

Praktische Durchführung

In einem kompakten Gefäßständer nach HENNER wurden 90 Eppendorfgefäße mit Deckel eingeordnet. Da wir Dreierbestimmungen durchführten gehörten jeweils drei Gefäße untereinander zusammen. Auf einem Leukoflexstreifen wird das Ansatzprogramm auf den Ständer vorprotokolliert. Dieser Streifen ist für die Auswertung unerlässlich. Die Zugabe mit einem EPPENDORF-Dosierer, dessen Präzision bei 100µl mit unter 0,5% angegeben wird, empfiehlt sich. Zuerst muß der eiskühlte Antikörper in einem Kolben gespeichert werden. Der Dosierer saugt 0,1 ml Standardlösung bzw. Probandenserum an und spritzt es zusammen mit exakt 0,1ml Antikörperlösung in ein Gefäß, dessen Wand man nicht berühren sollte. 0,1 ml isotonen Puffers B wird für einen Standardleerwert(B₀) angesaugt. Von diesem wird eine Neunfachbestimmung durchgeführt. Von jedem Wert der Eichkurve, von den Kontrollseren und den Probandenseren werden ebenfalls je 0,1ml angesaugt und mit 0.1ml Antikörperlösung in ein Inkubationsgefäß gespritzt. Zusätzlich muß noch ein Antikörperleerwert angesetzt werden, der nur Puffer enthält. Durch ihn errechnet sich die unspezifische Bindung.

Man sollte beim Ansetzen besonders auf Folgendes achten:

- Nach jeder Proben-Entnahme schauen, ob sich Luft im Schläuchchen befindet; in diesem Fall einmal spülen.
 - Vor dem Eingehen in die nächste Probe das Schläuchchen mit Klopapier abwischen, ohne aber damit Antikörper aufzusaugen
 - Wir haben darauf geachtet, daß zusammengehörige Seren nicht auf zwei verschiedene Ständer gesetzt werden.
 - Nach Beendigung eines Ständers jedes Gefäß mit dem VORTEX mischen, ohne daß die Flüssigkeit den Deckel erreicht.
- Danach läßt man den Ständer sofort im Kühlraum mindestens sieben Stunden vorinkubieren.

i. Die erste Inkubationszeit

HALES & RANDLE führten die Vorinkubation 1963 als "Disequilibrium-Technique" zur Verbesserung von Sensibilität und Präzision in ihrer Methode C ein. Dabei wird dem Sereninsulin die Möglichkeit gegeben, sich mit dem Antikörper zu binden. Anders verhält es sich bei der "Sequential-Saturation-Methode" (Schritt-für-Schritt-Sättigung), bei der im wesentlichen durch einen Antikörperüberschuss alles unmarkierte Antigen gebunden wird. Die bei unserer Methode nach der ersten Inkubationszeit gebildeten Komplexe sind aber entsprechend den Gesetzen des Massenwirkungsgesetzes reversibel, d.h. das neu hinzukommende J-125-Insulin ersetzt z.T. das unmarkierte Insulin.

Die Inkubationsdauer

Wie oben bereits angesprochen unterscheiden sich die Modifikationen der RIAs auch in ihrer Inkubationsdauer und -temperatur. Aus der Arbeit von RODBARD (1971) ist bekannt, daß die Sensibilität (untere Nachweisgrenze) durch eine verzögerte Zugabe des markierten Insulins verbessert wird. Wie ZETTNER schon ausführte, ist bei niedrigen Insulinkonzentrationen eine lange Erstinkubation nötig, damit sich ein annähernder Gleichgewichtszustand nach Zugabe des markierten Insulins einstellen kann.

Praktische Durchführung

Da wir für unsere Arbeit sowohl Basalspiegel wie stimulierte Konzentrationen zu bestimmen hatten, konnten wir nicht die Erstinkubation nur für die niedrigen Konzentrationen wählen, sondern verlängerten die Erstinkubation um eine Stunde auf sieben Stunden.

Die Inkubationstemperatur

Wie schon von ERHARDT 1971 beschrieben, so führt auch ZETTNER 1974 die Möglichkeit an, die Dauer bis zur Herstellung des Gleichgewichtszustandes erheblich zu verkürzen, wenn man bei höheren Inkubationstemperaturen arbeitet. Diese arbeitstechnische Erleichterung wird heute auch von kommerziellen Kitherstellern empfohlen.

Praktische Durchführung

Wir haben den Einfluß der Temperatur nicht selbst überprüft. Deshalb behielten wir die ursprüngliche Temperatur von 4°C bei. Nach ZETTNER (1974) erreicht die Reaktion bei dieser Temperatur nach 12h den maximalen Komplex-Bildungsstand, nach 6h verläuft sie schon annähernd maximal.

k. Das radioaktiv markierte Insulin

Das Radioisotop der Wahl ist heute J-125. Es hat gegenüber J-131 den Vorteil einer höheren Meßausbeute (70% statt 35%), einer höheren Stabilität (nur Gamma- statt Gamma-und Beta-Strahlung), einer längeren Halbwertszeit (60 statt 8 Tage). Die Jodierung von gereinigtem Rinderinsulin wurde von GREENWOOD und HUNTER (1963) angegeben. Diese mit Chloramin durchgeführte Methode ist in der Ausbeute ergiebig und garantiert hohe spezifische Aktivität. 60-85% des eingesetzten Nuklids wird in Insulin eingebaut. Das freie J-125 sowie Peptidbruchstücke müssen durch Gelfiltration entfernt werden. Von diesem gereinigten J-125-Insulin (Tracer) liefert AMERSHAM 0,1µg in 5ml Puffer A ausreichend für 400 Proben.

Praktische Durchführung

Wir zogen es vor, den Tracer langsam bei 4°C aufzutauen. Probeassays lehrten uns, daß häufiges Auftauen die Tracerqualität erheblich mindert. Wir bemühten uns Tracer immer möglichst frisch ohne mehrmaliges Auftauen zu verwenden. Verdünnt man den Tracer auf die endgültige Konzentration mit 35ml Puffer A. Hiervon wurden nach sorgfältigem Mischen jedem Eppendorfgefäß 0,1ml mit Hilfe einer Präzisions-Mikroliter-Spritze der Firma HAMILTON zugegeben. Bei Bestimmungen der Gesamtaktivität zeigte sich, daß "Ausreißer" 2% über dem Mittelwert lagen. Grobe Fehler -z.B.Hängenbleiben des Schutzhandschuhes- werden protokolliert und bei der Auswertung berücksichtigt. Man arbeitet präzise, wenn nach Aufsaugen der Tracerlösung in die saubere und trockene Spritze sämtliche Luftblasen entfernt werden.

1. Die Qualitätsanalyse des J-125-Insulins

MELANI et al. (1965) berichteten, daß Verunreinigung -möglicherweise Spaltungsprodukte des Insulins, die durch Lagerung bei Strahlenexposition entstanden- die Bestimmungen in hohem Maße verfälschen können: "werden Fehler beobachtet, die das Mehrfache des eigentlichen Insulingehalts betragen können". Wir prüften deshalb die Zusammensetzung des J-125-Insulins der Firma RADIOCHEMICALCENTER mit einer Sephadex G 50-Säule von 1x15 cm. Bei dieser Anordnung ergibt sich ein Trennbereich für Molekulargewichte von 1500-30000 (Literatur und genaue Beschreibung bei CLEMM 1976).

Ergebnis: von den eingesetzten 5 000 000 IPM wurden in den gemessenen 40 Fraktionen 4 500 000 IPM oder 90% wiedergefunden. 0,33% befanden sich im Vorspann, 0,4% in einem Nachspann von 14 Fraktionen. Im Hauptpeak erschienen 92,8% der eingesetzten Aktivität; in einem niedrigeren Vorpeak fanden wir 5,8%, was als Verschmutzung angesehen werden muß, die bei Lagerung zwangsweise bei jedem radioaktiv-markierten Hormon entstehen muß. Es besteht aus denaturiertem, markierten Antigen (z.B. aufgesprengte Disulfidbrücken). Genaue Untersuchungen über Lagerdauer und "Damaged-Tracer" liegen für hGH von GOTTSMANN (1973) vor. Die Herstellerfirma versicherte uns, daß sie Maßnahmen getroffen hat, um eine Beeinträchtigung der Testresultate durch diese Verunreinigungen zu verhindern. Bei der Methode C von HALES & RANDLE reagiert -im Gegensatz zur Holzkohlenmethode- nur intaktes J-125-Insulin mit dem Antikörper. Denaturiertes J-125-Insulin wird filtriert, die Resultate werden nicht beeinträchtigt. Deshalb führten wir keine regelmäßigen Tracerreinigungen durch wie sie MELANI 1965 empfohlen hatte. Wir möchten noch betonen, daß bei Anwendung von gereinigtem Tracer die Sensibilität erhöht wird. Die Insulinkonzentrationen erwiesen sich als niedriger als bei der Routinemethode (Assay Nr. 18).

m. Die zweite Inkubationszeit

Es ist der entscheidendste Vorteil der Sequential-Sättigungs-Methode, daß die beschriebenen Affinitätsunterschiede zwischen markiertem und unmarkiertem Insulin kompensiert werden. Es ist jedoch besonders darauf Wert zu legen, daß die zweite Inkubationszeit -anders als die erste- für alle Inkubate exakt gleich lang ist, da sonst das Ausmaß der Redissoziation von Inkubat zu Inkubat schwankt, was besonders für niedrige Konzentrationen Bedeutung hat. Ein genaues Timing ist deshalb unerlässlich.

Praktische Durchführung

Es muß gewährleistet sein, daß die benötigten Geräte zur errechneten Zeit auch zur Verfügung stehen; besonders wichtig dabei: die Mikrofiltrationsanlage. Da die Filtration länger dauert als die Tracerzugabe und eben daraus ein Inkubationsdauerunterschied resultiert, sollte zwischen den einzelnen Ständen bei der Tracerzugabe erhebliche Zeit gewartet werden. (Die Zeit kann genutzt werden z.B. für: Messung der Gesamtaktivität, Bereitung der Filterpapierchen, Färbung des Hämacceels Nummerierung von Polyröhrchen 1-400).

n. Die Trennung von freiem und gebundenem Insulin

Die Doppelantikörpermethode hat sich zu einer weitverbreiteten Trennungsmethode von freiem Antigen und dem im Präzipitat gebundenen Hormon entwickelt. Obwohl die Zugabe eines zweiten Antikörpers theoretisch eine neue Fehlerquelle darstellt, überwiegen die Vorteile in der Praxis bei weitem. Es gibt prinzipiell zwei Möglichkeiten den zweiten Antikörper hinzuzugeben: a. zu einem bereits entstandenem Antigen-Antikörper-Komplex (sogenannte Postpräzipitation), b. vor Reaktion mit einem Antigen zum ersten Antikörper, mit dem er einen unlöslichen Komplex eingeht, der erst als Gesamtes immunologisch reagiert, (sogenannte Prä-Präzipitation). Die bei unseren Bestimmungen angewandte Prä-Präzipitation besitzt den Vorteil, nicht in dem Maße von vielen unspezifischen Faktoren beeinflusst zu werden. Die Trennung des Doppelantikörpers kann durch Techniken erreicht werden, die sich beide als sehr brauchbar erwiesen haben, entweder mittels Zentrifugation oder mit Hilfe einer Mikrofiltrationsanlage. Wir führten die Mikrofiltration durch unter Verwendung

einer von BOTTERMANN, ERMILER und HENNER entwickelten halb-automatischen Methode (1971), die sich als empfindlich und genau erwies.

Praktische Durchführung

Unter genauer Beachtung der Dauer der zweiten Inkubationszeit werden mit einem Saugrechen, der genau den Abständen der Inkubationsgefäße auf einem HENNER'schen Ständer entspricht, immer 20 Gefäßinhalte gleichzeitig durch eine 25-Kanal-Micro-Pumpe der Firma Ismatec angesaugt und in Polyäthylenschläuchchen zu Fritten geleitet, die mit Membran-Folien genau abgedeckt sind. Diese Papierchen werden vor der Mikrofiltration auf die richtige Größe geschnitten (unter Beachtung peinlichster Sauberkeit, z.B. nur mit Pinzette anfassen) und so lange in Hämacceel eingeweicht, bis sie sich ganz vollgesaugt haben. Nach Angaben von GOTTSMANN (1973) absorbieren diese so behandelten Filterpapierchen nur 1% des freien Hormons. Um zu vermeiden, daß Reste des Inkubats in den Gefäßen, Schläuchchen oder auf den Filterpapierchen hängen bleiben, wird zwei Mal nachgewaschen. Dazu verwendeten wir nicht Puffer C (1 Teil Pferdeserum und 1 Teil Puffer A) sondern Hämacceel der Firma Behring mit einem Polypeptidanteil von 3,5%, das mit Toluolblau gefärbt wird, um rein optisch Inkubat und Waschlösung unterscheiden zu können. Die Papierchen werden mit Pinzetten abgenommen (nur am Rand fassen) und in vorbereitete Ständer mit deckellosten Gefäßen eingeordnet. In der richtigen Reihenfolge (Fehlerquelle!) kommen sie in Polyröhrchen zur Messung in den Tracerlab.

o. Die Messung der Radioaktivität

Da Jod-125 ein Gammastrahler ist, benötigt man einen Gamma-zähler. Uns stand ein Gamma Guard der Fa.Tracerlab zur Verfügung.

p. Der radioaktive Abfall

Der größte Teil der Gesamtaktivität befindet sich im Überlaufgefäß. Es muß zusammen mit den radioaktiven Papierchen sicher beseitigt werden.

q. Die Berechnung der Serumkonzentrationen

Durch eine an den Gammazähler angeschlossene Schreibmaschine werden die Ergebnisse schriftlich fixiert und können folgendermaßen ausgewertet werden.

1. Errechnung aller Mittelwerte, wobei Ausreißer bekannter und unbekannter Ursache nicht berücksichtigt werden.
2. Die unspezifische Bindung wird von jedem Mittelwert abgezogen.
3. Der Standardleerwert ($0\mu\text{E/ml}$) ist als maximale Bindungskapazität definiert.
4. Das Verhältnis der gebundenen Menge $^{125}\text{-J-Insulins}$ eines Standardwertes zur maximalen Bindung wird in % der maximalen Bindungskapazität umgerechnet ($B-N / B_0-N \cdot 100\%$).
5. Die Eichkurve erhält man, indem man auf semilogarithmischem Millimeterpapier zu den Standardkonzentrationen auf der x-Achse (in $\mu\text{E/ml}$ auf logarithmischer Einteilung) die prozentuale Bindung auf der y-Achse (linearer Maßstab) projiziert, (Logit Transformation bei ROBBARD 1971).
6. Schließlich wird die untere Nachweisgrenze eingetragen, die sich als 3-facher S.D. des B_0 -Wertes errechnet, (BÜTTNER 1972).
7. Nun können die den prozentualen Bindungen entsprechenden Konzentrationen abgelesen werden.

Diese mit der Hand zu ziehende Eichkurve ist fehlerträchtig sowie das Ablesen von fast 400 Proben sehr langwierig. Deshalb stellt die EDV-Auswertung, wie sie im Rechenzentrum der Innenstadt-Klinik-Ziemensstrasse durchgeführt wird, eine enorme Erleichterung und Verbesserung dar. Hier sei allen Mitarbeiter des Rechenzentrums für die sorgfältige und prompte Durchführung der Arbeiten gedankt.

(Vgl. Abb 2)

r. Die Zuverlässigkeit der Insulin-RIAs

Die Spezifität

Als Kreuzreaktion wird nach KABAT (1961) die serologische Verwandtschaft verschiedener Einzelantigene definiert; sie weisen ähnliche Strukturen im Molekül auf, und reagieren deshalb mit Antikörper gegen jedes andere dieser Antigene. Der vom RADIOCHEMICAL-CENTER der Firma AMERSHAM gekaufte Antikörper ist hochspezifisch für Insulin. Eine Interferenz mit anderen Antigenen tritt nur mit Proinsulin auf, nicht jedoch mit dem C-Peptid (Persönliche Mitteilung).

Die Richtigkeit

Wir stellten aus kommerziellem, chromatographisch gereinigtem Rinderinsulin selbst Kontrollseren durch Verdünnung auf $62.5 \mu\text{E/ml}$ und $31.3 \mu\text{E/ml}$ mit Puffer B her. In kleinen Portionen eingefroren wurde jeweils bei jedem Assay damit die Richtigkeit überprüft. Sie war im hohen und niedrigen Bereich gut. Die Mittelwerte der Kontrollseren betrugen $34.3 \mu\text{E/ml} \pm 1.27$ (S.D.) und $64.4 \mu\text{E/ml} \pm 4.30$ (S.D.). Daraus berechnete sich ein Between-Assay-Variationskoeffizient von 3.69 für den niedrigen Bereich und von 6.61 für den hohen Bereich.

Die Präzision

Um die Präzision zu erhöhen wurde jede Serumprobe dreifach bestimmt. Von B_0 wurde sogar eine neunfache Bestimmung durchgeführt, da hiervon die untere Nachweisgrenze abhing. Der durchschnittliche V_k der neun B_0 -Werte war 7.8; der beste Wert 4.0, der schlechteste beim ersten Assay 9.8. Bei den Dreifachbestimmungen wurden "Ausreißer" mit einem V_k über 15 nicht berücksichtigt.

Die Empfindlichkeit

Die Empfindlichkeit des RIA wird als untere Nachweisgrenze seit BÜTTNER 1972 folgendermaßen definiert: Mittelwert des Leerwertes (B_0) plus seiner dreifachen Standardabweichung. Damit errechnet man die kleinste Menge Antigens, die noch von der antigenfreien Lösung des Leerwertes unterschieden werden kann. Sie lag bei uns durchschnittlich bei $4 \mu\text{E/ml}$.

s. Was ist immunologisch meßbares Insulin.

Man darf Seruminsulin nicht mit IMI gleichsetzen. Betrachten wir, woraus sich Seruminsulin zusammensetzt und welche Bestandteile immunologisch miterfaßt werden.

Eine Sephadex-G-50 Gelchromatographie von Schweineinsulin zeigte nach ROOT 1972 folgende Bestandteile:

1. 1,6% waren Proteine mit einem Molekulargewicht größer als 10 000. Vergleiche hierzu, daß ein Insulin-Dimer ein MG= 11 400 besitzt. Einige dieser Bestandteile können mit Antikörpern reagieren.
2. 9% erwiesen sich als Proinsulin sowie als Insulin-Dimere. Da Proinsulin die gleiche Aminosäuresequenz und Struktur enthält wie Insulin, reagiert es sicher mit unserem Antikörper. Proinsulin-Konzentration im menschlichen Serum beträgt bei Normalgewichtigen nach Tolbutamidstimulation 5% des Gesamt-IMI (GUTMAN 1972).
3. 80,7% des chromatographierten Schweineinsulins wanderten im Hauptpeak und wurden als Insulin und als Desamido- und Arginin-Insulin (Abbauprodukte) identifiziert. Diese Zwischensubstanzen fand GUTMAN nicht bei Normalgewichtigen, wohl aber als Diarginyl-Insulin bei Übergewichtigen.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß physiologisch aktives Insulin nicht von inaktivem unterschieden werden kann. Das beim Abbau von Proinsulin entstehende C-Peptid reagiert, ebenso wie A- und B-Kette allein nicht mit dem Antikörper.

Weiterhin ist von den biologischen Methoden eine insulinähnliche Substanz bekannt (ILA/NSILA) wahrscheinlich extra-pankreatischer Quelle, die immunologisch nicht erfaßt wird. Diese ILA (möglicherweise synonym mit Somatomedin) soll in vitro 10 mal so hoch sein wie Insulin selbst.

5. Bestimmungen der Substrate des Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsels

Zur Erfassung des Kohlenhydratstoffwechsels wurden Glukose, Laktat und Pyruvat enzymatisch, zur Klärung des Fettstoffwechsels die nichtveresterten Fettsäuren, Glycerin und Beta-hydroxybutyrat kalorimetrisch bzw.enzymatisch bestimmt. Die genauen Beschreibungen dieser Methoden finden sich in den Dissertationen von BACHL G., BACHL I., NASSEHI F.und HESSE K.

6. Die statistische Auswertung

Vergleicht man kleine Kollektive, deren Verteilung unbekannt -wie es bei uns der Fall war-, verbietet sich der sonst sehr häufig verwendete t-Test nach STUDENT. Für unsere Signifikanzberechnungen zogen wir deshalb einen verteilungsfreien Test heran nämlich den Rangsummentest oder auch U-Test nach WILCOXON (Literatur SACHS). Die Irrtumswahrscheinlichkeit der fälschlichen Ablehnung der Nullhypothese wird durch Alpha angegeben. Zum Beispiel besagt ein Alpha gleich 0,05, daß sich unsere verglichenen Kollektive mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% signifikant unterscheiden. Dieser Wert gilt heute als Grenze bei Signifikanzvergleichen in medizinisch-experimentellen Arbeiten. Die Signifikanzberechnung erfolgte mit Hilfe einer SIEMENS EDV-Anlage 404. Für die Erstellung des Programms danke ich Herrn cand.med.R.HERNDL, für die Verbesserung desselben und Hilfestellungen bei der endgültigen Berechnung Herrn Dipl.phys.BAUER.

Die bei unseren Auswertungen anzuwendenden Regressionen sind zweiter Art, worunter man definierte, daß sich -in unserem Fall- sowohl Insulin wie der verglichene Parameter veränderliche Zufallsvariable sind. Ziel der Regressions- und Korrelationsanalysen ist es zu ergründen, ob zwei Variable von einander abhängen. Die Regressionsanalyse beschäftigt sich mit der

Art des Zusammenhangs, die Korrelationsanalyse mit dessen Grad. Damit wird quantitativ eine Gesetzmäßigkeit definiert, mit deren Hilfe der Vorhersage eines Wertes einer Variablen aus dem bekannten Wert einer anderen gelingt. Wir errechneten unsere Regressions- und Korrelationsanalysen mit einem Programm eines OLIVETTI-Tischrechners. Dabei muß betont werden, daß wir damit nur lineare nicht jedoch exponentielle, logarithmische oder parabolische Gesetzmäßigkeiten erfassen können. Das aus diesen Ergebnissen mit Hilfe von Tabellen (GEIGY) aufgestellte Gesetz sagt nicht, ob es sich um einen zwingend kausalen oder rein zufälligen Zusammenhang handelt. Prinzipiell findet man die Regressionsgerade nach der Methode der kleinsten Quadrate, d.h. als die Gerade, von der die Summe aller Abstandsquadrate der Einzelwerte am minimalsten ist.

I. Die Leistung der einzelnen Kollektive

Die Leistung in den verschiedenen Gruppen war mit Ausnahme der Kollektive N und U mit Werten zwischen 1,2 und 1,5 Watt nahezu identisch. Die Adipösen unter Nulldiät leisteten nur 1,0 Watt und erbrachten so nur 70% der Leistung der Kontrollen. Dies erklärt sich damit, daß im Kollektiv N drei Frauen eingereiht wurden, während die Kontrollgruppe nur von Männern gebildet wurde. Die beiden Diabetiker des Kollektivs U übertreffen mit 1,7 Watt die Kontrollen. Jedoch ist dies bei zwei Personen reiner Zufall.

Es ist zwar schwierig den Trainingszustand von Menschen exakt zu definieren, doch zeigt uns die ähnliche Leistung, die von den verschiedenen Gruppen im Mittel erbracht wurde, daß sie sich im Mittel auch in einem ähnlichen Trainingszustand befanden.

TABELLE 4

Kollektive mit Grundumsatzbedingungen		Leistung $\pm$ S.D.	
K	Kontrollen	1,4	$\pm$ 0,5 Watt
A	Diätetisch behandelte Diabetiker	1,3	$\pm$ 0,5 Watt
B	Medikamentös behandelte Diabetiker	1,3	$\pm$ 0,7 Watt
C	Subklinische Diabetiker	1,5	$\pm$ 0,5 Watt
N	Hungerstoffwechsel-Patienten	1,0	$\pm$ 0,1 Watt
Kollektive mit Glukosebelastung		Leistung $\pm$ S.D.	
S	Starke Insulinantwort	1,4	$\pm$ 0,2 Watt
T	Träge Insulinantwort	1,2	$\pm$ 0,2 Watt
U	Unzulängliche Insulinantwort	1,7	$\pm$ 0,3 Watt

(Alle angegebenen Werte sind ml/min·100g)

1. Die MBF der Stoffwechselgesunden (Vgl. Tabelle 5)

Die Ruhedurchströmung lag mit 1,7 in der bekannten Höhe.

Über den Sympathicus gesteuert erhöhte sich die MBF bei Arbeit auf das durchschnittlich 8-fache des Ruheniveaus(13,7), was einer Signifikanz von $\alpha = 0,001$ entspricht.

Die Durchblutung während der Erholungsphase war höher als während der Ruhe, jedoch nicht signifikant (2,4). Sie unterschied sich vom Arbeitswert ebenfalls mit $\alpha = 0,001$.

2. Die MBF der Diabetiker (Vgl. Tabelle 6)

In Ruhe unterschieden sich die Diabetes-Kollektive nicht von Stoffwechselgesunden (2,1/1,9/1,9).

Die Arbeitsdurchblutungssteigerung der diätetisch einstellbaren Diabetiker ähnelte den Kontrollen am meisten(14,4).

Signifikant schwächere Vasodilatation zeigten die bereits therapierten Diabetiker der Gruppe B. Mit einem Wert von 9,6 unterschieden sie sich mit $\alpha = 0,05$ von Stoffwechselgesunden und mit $\alpha = 0,01$ von Diabetikern, die keiner Therapie bedürfen. Dieses Verhalten läßt sich mit dem signifikant höherem Alter der Gruppe B erklären.

Die Gruppe der subklinischen Diabetiker läßt sich dadurch charakterisieren, daß ihre Arbeitsdurchblutung initial zwar schwach war, sich im Durchschnitt aber nicht signifikant von den Kontrollen unterschied.

Während Erholung fanden sich bei Diabetikern keine wesentlichen Unterschiede zu Gesunden (2,0/1,5/2,7).

(Detaillierte Angaben entnehme man den Tabellen 5 und 6 oder der Dissertation von BACHL G.1976.)

3. Die MBF Adipöser während totalen Fastens (Vgl. Tab. 7)

Auch bei diesen Patienten lag die Durchströmung in der Höhe der Gesunden (1,9) während Ruhe, tendenziell niedriger (9,7) während Arbeit und leicht erniedrigt (1,7) in der Erholungsphase.

(Vgl. Dissertation von BACHL I.)

4. Die MBF bei Probanden mit Glukosebelastung (Vgl. Tab. 8)

Die Ruhedurchströmung war im Durchschnitt leicht, aber nicht signifikant erhöht: Gruppe S 2,0/ Gruppe T 2,4/ Gruppe U 1,6.

Mit einer initialen Steigerung auf das 7- bis 8-fache der Ruhe-MBF bei Arbeit verhielten sich diese Patienten wie die Kontrollen. Im Durchschnitt über 20 Minuten ähnelten nur die Patienten der Untergruppe T den Stoffwechselgesunden (12). Patienten mit überschießender (Gruppe S) und fehlender (Gruppe U) Insulinreaktion unterschieden sich von den Stoffwechselgesunden durch geringere Arbeitsdurchblutung im Mittel über 20 Minuten (9,0).

Auch in der Erholung gab es Auffälligkeiten: Die Gruppe T zeigte eine Durchströmung von 3,5, was deutlich über dem Kontrollwert liegt.

Patienten mit überschießender Insulinproduktion zeigten normale Erholungsdurchblutung (2.2).

Die beiden Diabetiker mit fehlender Insulinproduktion wiesen mit 1,1 die niedrigste Durchblutung auf, die überhaupt gesehen wurde.

Durchblutung - wBF (ml/min x 100g) - Basaluntersuchungen - Kollektiv K

Proband	-10'	0'	5'	10'	15'	20'	26'	32'
K1	1.53	1.81	11.61	8.59	4.32	7.38	3.20	1.99
K2	1.61	1.47	36.84	20.74	10.90	5.96	1.70	0.87
K3	0.65	1.29	11.58	49.60	12.04	14.05	1.09	1.26
K4	1.84	1.42	28.40	18.01	25.75	4.04	2.11	1.41
K5	1.84	0.70	22.83	7.82	7.87	4.38	1.73	1.01
K6	0.63	0.51	24.23	8.18	8.86	4.29	2.15	3.24
K7	1.05	3.52	3.03	5.01	5.49	4.98	3.75	2.84
K8	1.84	2.78	5.31	29.77	11.25	11.25	8.03	3.22
K9	5.58	1.58	11.15	17.50	9.84	19.17	1.50	1.32
$\bar{x}$	1.84	1.68	17.22	18.36	10.70	8.39	2.81	1.91
S.D.	± 1.88	± 0.95	± 11.37	± 14.15	± 6.21	± 5.32	± 2.13	± 0.95
S.E.M.	± 0.77	± 0.32	± 3.79	± 4.72	± 2.07	± 2.07	± 0.71	± 0.32

Durchblutung - MBF (ml/min x 100g) - Basaluntersuchungen - Kollektive A, B, C

Proband	-10'	0'	5'	10'	15'	20'	26'	32'
A1	2.40	1.87	18.67	12.15	10.86	6.98	1.49	2.17
A2	0.47	1.56	16.96	8.62	10.20	20.00	3.43	1.87
A3	1.63	2.08	30.59	8.65	6.31	1.62	0.75	1.63
A4	2.29	1.92	11.05	14.38	9.12	8.94	2.70	2.29
A5	2.68	3.62	32.44	29.00	14.14	14.15	2.00	1.61
$\bar{x}$	1.89	2.21	21.94	14.56	10.13	10.34	2.07	1.91
S.D.	± 0.88	± 0.81	± 9.21	± 8.43	± 2.84	± 7.02	± 1.04	± 0.31
S.E.W.	± 0.40	± 0.36	± 4.12	± 3.77	± 1.27	± 3.14	± 0.47	± 0.14
B1	1.94	2.17	17.67	9.01	5.38	3.33	1.53	2.58
B2	1.82	1.19	11.02	6.07	6.09	3.10	1.36	0.90
B3	0.92	1.52	15.10	4.47	3.42	1.06	0.84	0.70
B4	4.25	3.28	6.21	3.86	6.33	8.86	2.51	3.83
B5	2.09	2.35	16.28	5.75	6.45	5.50	0.94	0.64
B6	2.20	1.44	39.73	24.92	3.91	2.76	1.37	1.54
B7	0.60	0.60	21.72	17.60	6.20	7.25	0.85	1.05
$\bar{x}$	1.97	1.68	18.25	10.24	5.40	4.55	1.34	1.61
S.D.	± 1.17	± 0.92	± 10.68	± 7.99	± 1.24	± 2.76	± 0.59	± 1.15
S.E.W.	± 0.44	± 0.35	± 4.04	± 3.02	± 0.47	± 1.04	± 0.22	± 0.45
C1	3.26	1.79	9.96	7.15	4.64	8.41	5.30	6.35
C2	2.33	1.00	3.64	8.64	12.77	4.10	1.29	1.81
C3	2.02	1.36	16.88	18.79	17.25	12.25	1.73	1.24
C4	1.77	1.28	5.17	4.21	5.19	5.39	1.85	1.94
$\bar{x}$	2.35	1.48	8.91	9.70	9.96	7.54	2.54	2.34
S.D.	± 0.65	± 0.38	± 5.95	± 6.33	± 6.11	± 3.62	± 1.85	± 3.35
S.E.W.	± 0.33	± 0.19	± 2.98	± 3.17	± 3.06	± 1.81	± 0.95	± 1.18

TABELLE 7

Durchblutung - MBF (ml/min·100g) Basaluntersuchungen Kollektiv N								
Proband	-10'	0'	5'	10'	15'	20'	26'	32'
N1	1.14	1.82	21.21	4.36	2.59	2.31	1.05	0.78
N2	1.28	2.20	17.07	6.14	2.84	3.74	1.44	2.15
N3	2.03	2.11	16.87	9.61	3.13	4.16	1.59	3.66
N4	3.67	1.60	3.87	12.08	11.65	9.36	1.55	2.76
N5	0.38	1.91	28.00	10.95	11.74	11.63	1.10	0.34
$\bar{x}$	1.70	1.93	17.40	8.63	6.39	6.24	1.35	1.94
S.D.	+1.25	+0.24	+ 8.81	+3.27	+4.85	+4.03	+0.25	+1.38
S.E.M.	+0.56	+0.11	+ 3.94	+1.46	+2.17	+1.80	+0.11	+0.62

TABELLE 8

Durchblutung - MBF (ml/min x 100g) - Glukosebelastung - Kollektive S, T, U

Proband	-45'	-30'	-15'	-0'	5'	10'	15'	20'	26'	32'
S1	2,90	2,95	2,75	3,00	14,80	13,83	9,40	8,33	3,89	4,83
S2	0,83	1,10	1,03	2,66	8,94	7,90	5,18	6,02	0,91	0,97
S3	1,50	0,78	1,03	1,71	14,95	9,63	4,33	2,53	1,49	0,78
S4	3,27	6,11	2,18	1,53	9,90	9,85	6,12	9,02	1,86	1,67
S5	2,56	1,00	1,76	4,91	10,60	6,26	3,37	2,00	1,67	1,82
S6	1,33	1,33	1,19	1,46	14,00	3,87	4,76	11,52	1,67	2,79
S7	2,06	1,83	2,06	2,23	41,11	10,41	4,30	3,52	1,77	1,77
$\bar{x}$	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00
S.D.	+2,06	+2,16	+1,71	+2,51	+16,33	+ 8,82	+5,35	+6,13	+1,89	+2,09
S.E.	+0,34	+0,71	+0,25	+0,46	+ 4,23	+ 1,21	+0,75	+1,37	+0,35	+0,52
T1	1,21	1,21	1,43	0,98	22,63	10,22	10,34	5,83	3,93	2,59
T2	1,00	4,30	2,37	1,13	23,19	4,91	8,53	6,17	2,59	3,74
T3	2,90	1,11	0,75	5,73	29,06	9,73	5,95	12,01	1,84	5,94
T4	1,93	1,93	2,24	1,61	5,99	6,43	6,86	4,76	3,84	4,89
T5	1,29	0,74	0,94	2,18	7,13	6,49	6,42	6,81	1,44	1,78
T6	6,44	1,86	2,79	5,53	14,00	8,64	11,82	10,23	7,49	5,30
T7	2,20	1,50	2,25	2,86	16,89	17,57	12,68	9,16	3,09	3,24
$\bar{x}$	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00
S.D.	+2,42	+1,82	+1,82	+2,86	+16,98	+ 9,14	+ 8,94	+7,85	+3,46	+3,93
S.E.	+0,71	+0,46	+0,30	+0,75	+ 3,25	+ 1,58	+ 1,02	+1,00	+0,76	+0,57
U1	1,90	1,28	2,30	2,11	15,84	5,02	7,37	7,88	2,10	1,09
U2	1,33	1,07	1,84	1,07	9,77	14,48	6,65	2,85	0,70	0,58
$\bar{x}$	1,62	1,18	2,07	1,59	12,81	9,75	7,01	5,37	1,40	0,84
S.D.	0,40	0,15	0,33	0,74	4,29	6,69	0,51	3,56	0,99	0,36
S.E.	0,29	0,11	0,23	0,52	3,04	4,73	0,36	2,51	0,70	0,25

III. Peripheres Verhalten von Insulin bei Arbeit unter

=====

Grundumsatzbedingungen (Vgl. Abb. 3 und Tab. 9-12, 21 a,b)

=====

- a. Die arterielle Insulinkonzentration des stoffwechselgesunden Organismus nach 14-stündigem Fasten betrug $14 \mu\text{E/ml}$. Dabei sahen wir individuelle Schwankungen von 4 bis $23 \mu\text{E/ml}$. Unter Berücksichtigung der Durchblutung konnten wir errechnen, daß für 100g Muskelgewebe 20-25 $\mu\text{E/min}$ angespült werden.

Während der 20-minütigen Arbeit fielen die arteriellen Insulinkonzentrationen nicht signifikant um $1 \mu\text{E/ml}$ je 10 Minuten. Das entspricht einer Reduktion von 15%. Die absolute Menge des antransportierten Insulins hingegen vervielfältigte sich auf Grund des Einschießens von Blut von 25 auf $250 \mu\text{E/min} \cdot 100\text{g}$ also auf das Zehnfache des Ruhewertes. Durch die Adaptation der Durchblutung an die Arbeit ermäßigte sie sich auf den vierfachen Ruhewert nach 15 Minuten.

Nach der Arbeit nahmen die Insulinspiegel wieder leicht zu ohne die Ausgangswerte zu erreichen ($12,6 \mu\text{E/ml}$). Wegen der noch leicht höheren Durchblutung standen dem Muskel für die Erholung mehr Insulin zur Verfügung als in Ruhe ($30 \mu\text{E/min} \cdot 100\text{g}$).

- b. An zwei Abnahmezeitpunkten konnten wir vergleichen, wie sich die venösen Insulinkonzentrationen Gesunder unter Grundumsatzbedingungen von den simultanen arteriellen Spiegel unterscheiden: beide Werte ($12 \mu\text{E/ml}$, $13 \mu\text{E/ml}$) lagen unter den arteriellen Konzentrationen.

Im Gegensatz zur Tendenz der arteriellen Spiegel, bei Arbeit abzunehmen, gab es keinen Unterschied zwischen venösen Mittelwerten vor und während der Arbeit. Eine der arteriellen entgegengesetzte Tendenz ist daraus ersichtlich, daß 7 von 9 Probanden durch die zehnminütige Arbeit einen venösen Anstieg zeigten. Die beiden Probanden ohne diesen Anstieg hatten ihn bereits im Moment vor der Arbeit (0') gezeigt.

Außer bei 10' waren die venösen Konzentrationen während Arbeit höher als die arteriellen, allerdings nicht signifikant.

Nach der Arbeit sahen wir wiederum eine andere Tendenz: die arteriellen Werte lagen über den venösen (11,6 $\mu\text{E/ml}$).

- c. Die arteriovenösen Differenzen sind klein. In Ruhe waren sie überwiegend positiv, d.h. es wird mehr Insulin an- als abtransportiert (+ 1 $\mu\text{E/ml}$).

Durch die Arbeit kehrten sich die a-v-Differenzen größtenteils um, oder wurden zumindest schwächer positiv. Der Mittelwert über eine 20-minütige Arbeit unterscheidet sich dadurch signifikant vom Ruhemittelwert.

Zu allen Abnahmepunkten während der Arbeit (5', 10', 15', 20') errechnete sich ein negativer Wert, nimmt man den hoch positiven 10'-Wert des Patienten K3 heraus, der außer der 2s-Grenze liegt.

In der Erholungsphase ist die a-v-Differenz schwach positiv, ohne sich von Ruhe noch von Arbeit zu unterscheiden. Dies erklärt sich durch das über die Arbeitsphase hinaus verlängerte Freisetzen von Insulin einiger Patienten.

Zusammenfassend können wir feststellen, daß wir in Ruhe bei 2/3 der Messungen eine Insulinfixierung, bei einem Drittel eine Freisetzung beobachteten. In der Arbeitsphase kehrte sich dieses Verhältnis um: 60% der Fälle setzten Insulin frei, wobei wir bei jedem Probanden zu irgendeinem Zeitpunkt diese Freisetzung sahen.

- d. Die wirklichen Mengen der Insulinverschiebung sieht man erst bei Berücksichtigung der Durchblutung, also nach Berechnung des Umsatzes; man muß aber auch bedenken, daß sich mancher Wert enorm vergrößert. Z.B. liegt der oben angesprochene Wert 10'/K3 jetzt außerhalb 11s.

Der ruhende Muskel fixiert Insulin (+ 1,5 $\mu\text{E}/100\text{g}\cdot\text{min}$) und ändert dieses Verhalten signifikant, sobald er arbeitet. Nun

läßt er mehr Insulin frei als er aufnimmt ($- 6,3 \mu\text{E}/\text{min} \cdot 100\text{g}$). Verhält sich diese Insulinfreisetzung über die gesamte Arbeitszeit konstant? Wir sahen die Tendenz, daß sich nach 15' eine Art Erschöpfung einstellte, die aber im Endspurt nochmals auf das Doppelte gesteigert werden konnte.

Erholt sich der Muskel, retiniert er wieder Insulin, ohne signifikantem Unterschied zur Arbeit.

Die gesamte von uns untersuchte Muskelgruppe setzte während der 20 Minuten Arbeit über 600 μE frei; extrapoliert man - natürlich unter Vorbehalten - dieses Ergebnis auf 1h so erhält man eine Insulinfreisetzung von 2000 $\mu\text{E}/\text{h}$. Setzt man Freisetzung während Arbeit in Beziehung zur Speicherung während Ruhe und Erholung, so braucht das Muskelgewebe eine 3-4mal solange arbeitsfreie Zeit, um die Speicher - vorausgesetzt es gibt diese - zu füllen.

Tabelle 9

Insulin - arterielle Spiegel ($\mu\text{E/ml}$) - Basaluntersuchungen

Proband	-10'	0'	5'	10'	15'	20'	25'	30'
K1	17.41	18.85	14.31	17.51	15.41	15.59	15.82	15.62
K2	22.77	22.04	19.36	20.94	19.06	19.03	19.13	18.77
K3	13.59	16.35	19.47	16.53	11.62	11.56	15.34	-
K4	4.24	4.30	4.15	4.42	5.29	5.36	5.20	5.70
K5	11.51	12.37	12.76	8.85	8.42	9.00	10.43	13.52
K6	10.86	10.00	11.82	10.86	11.81	10.07	11.70	9.52
K7	15.49	12.80	13.01	15.31	14.60	15.48	17.60	10.27
K8	12.73	12.76	10.08	11.35	9.87	-	12.83	12.05
K9	9.46	10.06	10.69	8.64	8.66	9.52	10.72	11.59
$\bar{x}$	14.35	13.28	12.85	12.71	11.64	11.82	13.21	12.37
S.D.	± 5.76	± 5.25	± 4.71	± 5.22	± 4.19	± 4.17	± 4.28	± 4.30
S.E.i.	± 1.22	± 1.75	± 1.57	± 1.74	± 1.40	± 1.39	± 1.43	± 1.47

Insulin - venöse Spiegel ($\mu\text{E}/\text{ml}$) - Basaluntersuchungen

Proband	-10'	0'	5'	10'	15'	20'	25'	30'
K1	14.03	16.74	15.88	17.75	15.13	16.35	12.80	12.10
K2	19.09	19.66	20.27	19.26	21.02	21.80	20.30	
K3	15.93	15.45	14.69	11.51	12.66	15.57	13.60	
K4	3.51	4.72	3.98	4.92	5.41	4.52	5.31	3.30
K5	10.20	14.22	16.25	8.16	9.96	11.05	9.42	12.63
K6	11.08	9.32	11.34	12.64	12.18	11.10	11.44	10.93
K7	14.51	14.16	17.71	14.42	12.30	12.17	18.46	10.44
K8	11.67	11.67	10.51	11.78	9.61		9.90	13.20
K9	9.96	12.81	8.62	12.29	8.61	10.75	10.74	11.47
K	12.22	13.25	13.31	12.53	11.88	12.98	12.32	10.59
S.D.	± 4.42	± 4.29	± 5.16	± 4.40	± 4.43	± 5.15	± 4.59	± 3.53
S.E.M.	± 1.47	± 1.43	± 1.72	± 1.47	± 1.48	± 1.81	± 1.53	± 1.26

TABELLE 11

Insulin - arterio-venöse Differenzen ($\mu\text{E}/\text{ml}$) - Basaluntersuchungen

Proband	-10'	0'	5'	10'	15'	20'	26'	32'
K1	+3.38	+2.11	-1.57	-0.24	+0.23	-1.26	+3.56	+3.52
K2	+3.68	+2.38	-0.91	+1.68	-1.96	-2.72	-1.12	
K3	+2.66	+0.90	+4.78	(+5.02)	-1.04	-4.07	+2.26	
K4	+0.73	-0.42	+0.17	-0.50	-0.12	+0.86	-0.11	+0.42
K5	+1.31	-1.89	-3.49	+0.69	-1.54	-1.95	+1.01	+0.90
K6	-0.22	+0.18	+0.48	-1.73	-0.37	-1.03	+0.26	-1.13
K7	+0.98	-1.36	-4.70	+0.89	+2.30	+3.31	-0.86	-0.41
K8	+7.11	+1.09	-0.43	-0.43	+0.26		+2.93	-1.15
K9	-0.50	-2.75	+2.07	-3.65	+0.05	+0.37	+0.04	+0.05
$\bar{x}$	+2.13	+0.03	-0.40	+0.19	-0.24	-0.81	+0.89	+0.31
S.D.	+2.31	+1.78	+2.82	+2.40	+1.24	+2.25	+1.67	+1.50
S.S.L.	+0.54	+0.59	+0.99	+0.80	+0.41	+0.80	+0.56	+0.01

Insulin-Umsatz ($\mu\text{E}/100\text{g}/\text{min}$) - Basaluntersuchungen

Proband	-10'	0'	5'	10'	15'	20'	26'	32'
K1	+ 5.17	+ 3.82	-18.23	- 2.06	+ 0.99	- 9.30	+11.39	+ 7.00
K2	+ 5.92	+ 3.50	-33.52	+34.84	-21.36	-16.21	- 1.90	
K3	+ 1.73	+ 1.16	+55.35		-12.52	-57.18	+ 2.46	
K4	+ 1.34	- 0.60	+ 4.83	- 9.01	- 3.09	+ 3.47	- 0.23	+ 0.59
K5	+ 2.41	- 1.32	-79.68	+ 5.40	-12.12	- 8.54	+ 1.75	+ 0.91
K6	- 0.14	+ 0.09	+11.63	-14.56	- 3.28	- 4.42	+ 0.56	- 3.66
K7	+ 1.03	- 4.79	-14.24	+ 4.46	+12.63	+16.48	- 3.23	- 1.16
K8	+13.08	+ 3.03	- 2.28	-12.80	+ 2.93		+23.53	- 3.70
K9	- 2.79	- 4.35	+23.08	-63.88	+ 0.49	+ 7.09	+ 0.06	+ 0.07
$\bar{x}$	+ 3.08	+ 0.06	- 5.90	- 7.20	- 3.93	- 8.58	+ 3.82	+ 0.01
S.D.	$\pm$ 4.62	$\pm$ 3.29	$\pm$ 37.84	$\pm$ 27.74	$\pm$ 10.07	$\pm$ 22.80	$\pm$ 8.48	$\pm$ 3.33
S.E.M.	$\pm$ 1.54	$\pm$ 1.10	$\pm$ 12.61	$\pm$ 9.81	$\pm$ 3.36	$\pm$ 7.60	$\pm$ 2.83	$\pm$ 1.26

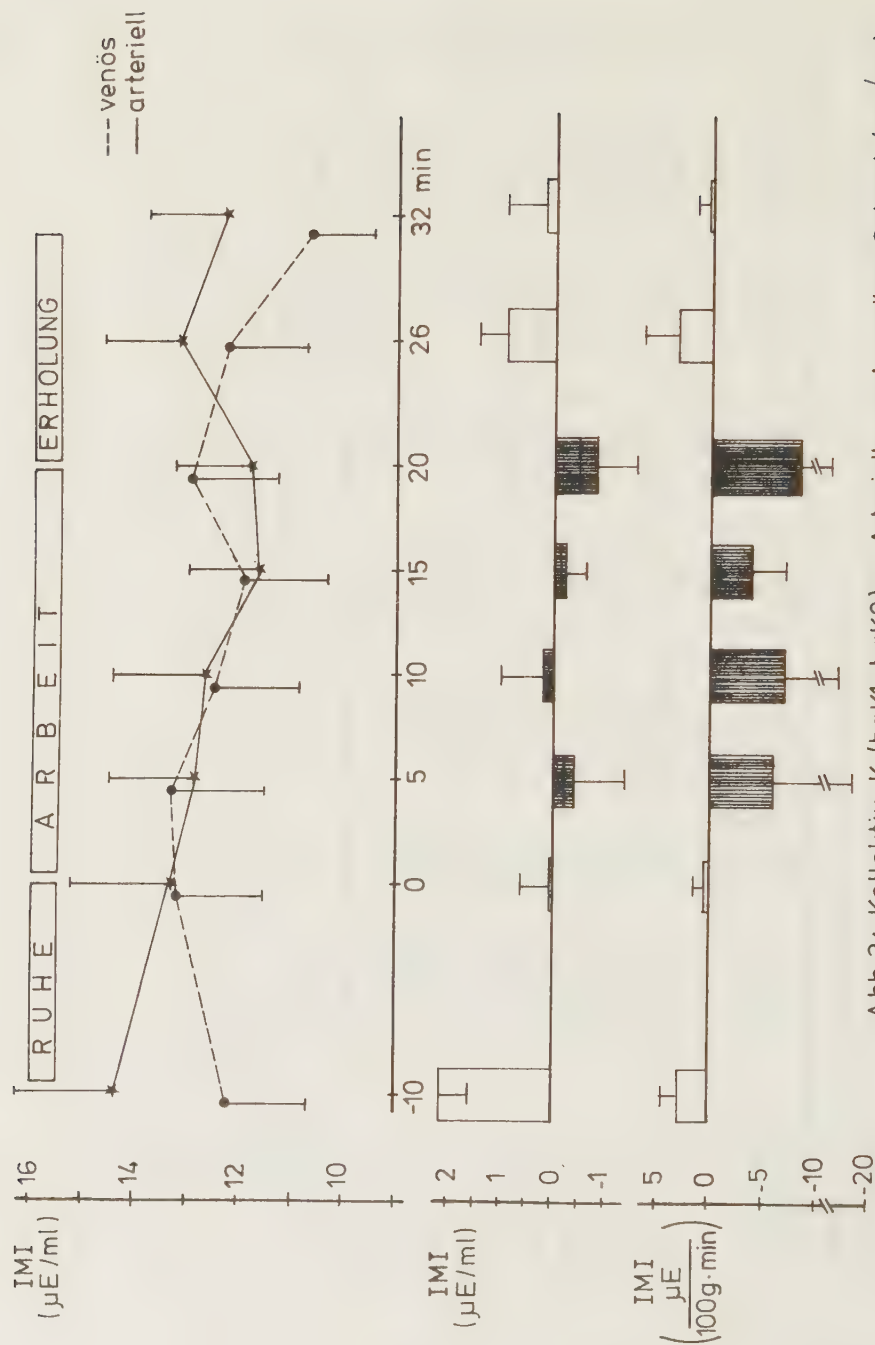


Abb. 3: Kollektiv K (baK1-baK9) a. Arterielle und venöse Spiegel (μE/ml)
 b. Arterio-venöse Differenz (μE/ml)
 c. Umsatz ("Uptake/Release") μE/100g·min
 $\bar{x} \pm S.E.M.$

IV. Peripheres Verhalten von Insulin während Arbeit unter Grundumsatzbedingungen beim diabetischen Stoffwechsel

(Vgl. Abb 4, 5, 6; Tab. 13-16, 21 a, b)

- a. Wie bereits früher mitgeteilt (BACHL 1974), lagen die arteriellen Insulinkonzentrationen beim Diabetes ($11,3 \mu\text{E/ml}$) gerinfügig, aber signifikant ($\text{Alpha} = 0,05$) unter denen der Gesunden. Jedoch, der individuelle Ruhewert erlaubt nicht die Identifikation eines Diabetikers.
- Überraschend verhielten sich die manifesten Diabetiker, die bereits medikamentös behandelt worden waren (Gruppe B): sie verhielten sich vor, während und nach der Arbeit nahezu gleich wie Gesunde und brauchen deshalb nicht gesondert erwähnt werden. Diesen Befund könnte man mit Spuren der antidiabetischen Therapie erklären, die sich auch nach deren Absetzen noch 1-2 Tage im Körper befinden.

Die noch nie therapierten, manifesten Diabetiker (Gruppe A) hatten signifikant niedrigere arterielle Insulinspiegel ($9 \mu\text{E/ml}$) als Stoffwechselgesunde.

Patienten mit leichterem Stadium (subklinische Diabetiker der Gruppe C) unterschieden sich nicht ($10,6 \mu\text{E/ml}$) sicher von Kontrollen.

Bei Arbeit sahen wir bei Gesunden tendenziell einen Abfall der angespülten Insulinkonzentrationen. Diesen Befund zeigten die Diabetiker nicht.

Nach der Arbeit überstiegen die arteriellen Werte tendenzmäßig die arteriellen Ruhewerte, ein Befund, den Kontrollen nicht zeigten.

- b. Kein venöser Ruhemittelwert der Diabetiker lag über dem arteriellen. Die Gruppen A und C unterschieden sich sicher von den Kontrollen.

Bei Arbeit zeigten die venösen Insulinspiegel der Diabetiker anders als die arteriellen steigende Tendenzen, die sich auch in der Erholungsphase fortsetzten.

- c. Auch die arterio-venösen Differenzen der Diabetiker sind in Ruhe positiv (+0,38 / +0,98 / +0,80 $\mu\text{E/ml}$).

Die Umkehr ins Negative bei Arbeit kennt der diabetische Stoffwechsel (-0,33 $\mu\text{E/ml}$) wie der Gesunde. Jedoch unterscheiden sich nur die bereits therapierten Diabetiker von der Ruhe signifikant. Dieser charakteristische Unterschied des Insulinverhaltens zwischen Ruhe und Arbeit fehlt beim nicht behandelten, genuinen Diabetiker. Die Ursache liegt nicht - wie man nun annehmen könnte - in einem Zuwenig negativer a-v-Werte während der Arbeitsphase, sondern in einem Zuviel negativer a-v-Werte bereits in Ruhe (40-50% statt 20-30% bei Kontrollen und therapierten Diabetikern). Dieses verlorengegangene bedarfs-angepaßte Insulinspiel bestätigt sich auch in der Erholungsphase. Unbehandelte Diabetiker lassen keine Veränderung zur Erholungsphase erkennen, die mittleren a-v-Differenzen sind praktisch 0. Behandelte Diabetiker hingegen führen wieder Insulin an das erschöpfte Muskelgewebe heran; bei ihnen unterschied sich Arbeit von Erholung mit Alpha = 0,0125 hochsignifikant.

Gleichzeitig könnte man folgern, daß die antidiabetische Therapie dieses verlorene Insulinspiel dem Diabetiker wieder zurückbringt.

Befunde, die sich aus a-v-Differenzen ergeben, gewinnen zudem an Gewicht, da sich etwaige Störfaktoren (Adhäsion von Insulin, Destruktion oder methodische Fehler) in arteriellen und venösen Werten gleichermaßen finden und durch Subtraktion sich aufheben. Deshalb haben wir immer darauf geachtet, diese zusammengehörigen Werte nicht durch RIA-technische Möglichkeiten zu trennen.

- d. Die wirklichen Mengen der Insulin-Nettoverschiebung werden durch den Umsatz deutlich gemacht; dieser ist aber durch die größere Fehlerquelle der MBF vorsichtiger zu beurteilen als arterio-venöse Differenzen.

In Ruhe bleibt auch bei Diabetikern Insulin in der Peripherie (1,5 $\mu\text{E/min}\cdot 100\text{g}$), bei Arbeit wird von allen Gruppen Insulin wieder freigesetzt; therapierte und subklinische Diabetiker unterscheiden sich signifikant von der Ruhephase. Die diätetisch eingestellten Diabetiker setzen zwar (rechnerisch) mehr frei als alle anderen Gruppen, zeigten aber keine Signifikanz.

TABLE 13

Insulin - arterielle Spiegel ($\mu\text{E}/\text{ml}$) - Basaluntersuchungen

Proband	-10'	0'	5'	10'	15'	20'	25'	30'
A1	8.12	9.82	9.17	8.33	6.65	9.64	10.30	9.27
A2	5.63	7.32	5.26	5.70	5.29	5.60	6.57	5.30
A3	10.88	11.32	10.09	9.65	9.99	10.25	10.96	8.22
A4	4.58	5.42	4.94	5.30	6.13	6.11	5.19	4.73
A5	14.03	10.19	13.50	14.10	11.40	12.26	15.95	15.97
$\bar{x}$	8.65	8.81	8.59	8.62	7.89	8.57	9.79	8.70
S.D.	± 3.87	± 2.39	± 3.57	± 3.56	± 2.65	± 2.79	± 4.21	± 4.49
S.E.m.	± 1.73	± 1.07	± 1.60	± 1.59	± 1.19	± 1.25	± 1.89	± 2.01
B1	17.90	18.44	15.52	16.67	18.17	17.68	19.32	18.75
B2	9.62	9.99	9.26	9.17	9.32	9.05	9.05	9.61
B3	17.99	15.90	11.96	10.51	8.61	9.10	9.97	11.42
B4	16.58	16.93	16.01	16.43	15.74	16.18	14.57	13.34
B5	17.15	15.40	13.71	13.79	15.09	12.87	13.99	13.57
B6	11.06	11.90	10.07	11.16	14.38	12.16	15.34	13.03
B7	6.62	4.88	5.15	6.72	6.25	5.56	6.07	5.33
$\bar{x}$	13.85	13.35	11.67	12.06	12.51	11.80	12.62	12.19
S.D.	± 4.65	± 4.74	± 3.85	± 3.73	± 4.42	± 4.26	± 4.48	± 4.12
S.E.m.	± 1.76	± 1.79	± 1.45	± 1.41	± 1.67	± 1.61	± 1.69	± 1.56
C1	12.65	13.38	12.49	14.99	14.47	11.93	15.33	12.13
C2	7.88	6.91	7.10	6.92	7.18	6.63	6.92	7.19
C3	11.88	14.21	14.89	13.21	13.89	13.85	17.03	14.27
C4	9.77	7.87	8.25	9.08	8.20	8.59	7.41	9.16
$\bar{x}$	10.55	10.59	10.68	11.05	10.94	10.25	11.67	10.69
S.D.	± 2.15	± 3.73	± 3.64	± 3.70	± 3.78	± 3.25	± 5.25	± 3.13
S.E.m.	± 1.08	± 1.87	± 1.82	± 1.85	± 1.89	± 1.62	± 2.63	± 1.57

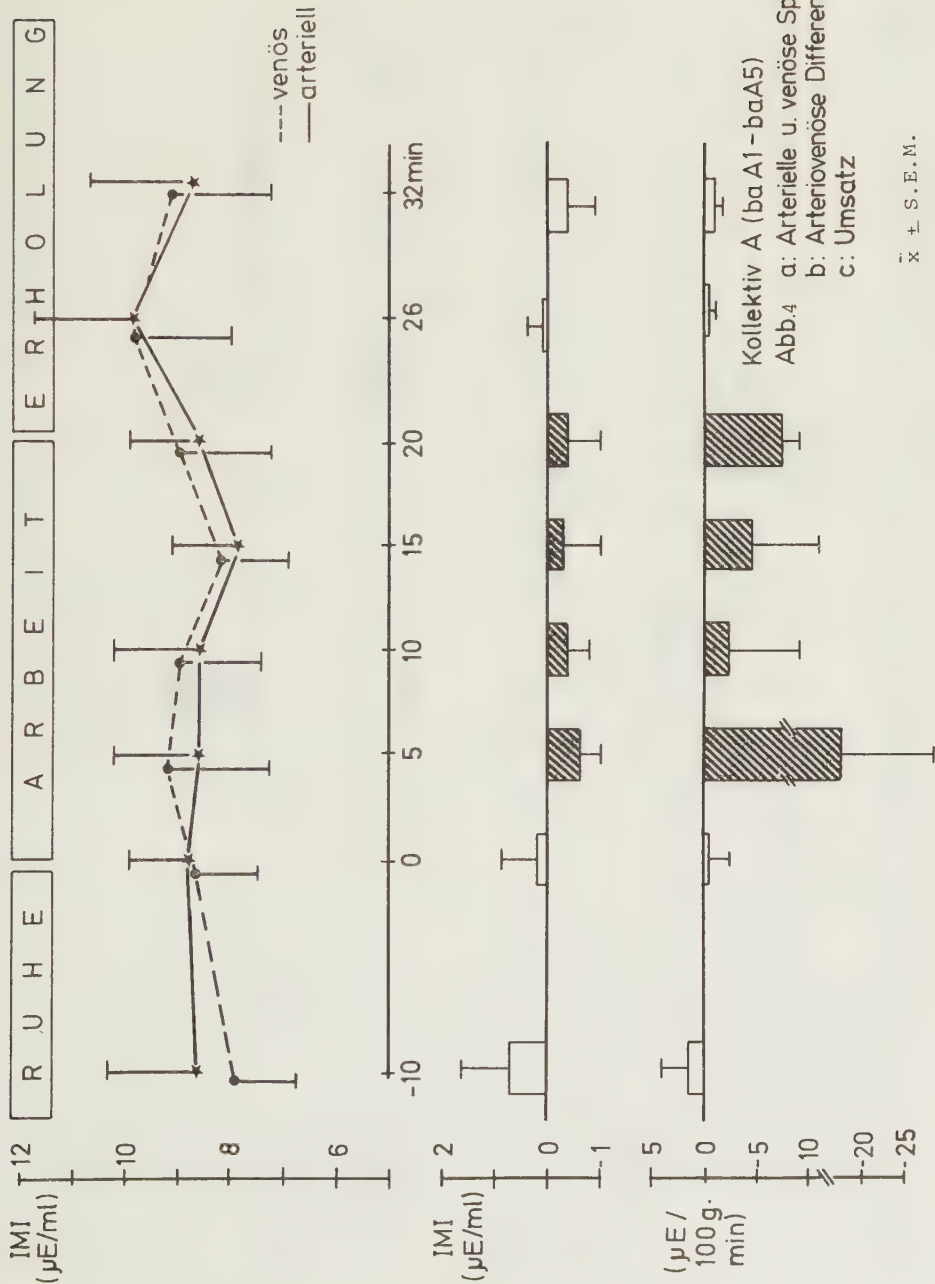
Tabelle 15

Insulin - Carbin-venöse Differenzen ($\mu\text{E/ml}$) - Basaluntersuchungen

Insulin	-10'	0'	5'	10'	15'	20'	26'	32'
A1	-0.57	+1.14	+0.26	-1.44	-2.69	-0.80	-0.66	-0.50
A2	+0.59	-0.16	-1.14	+0.50	-0.56	-0.28	+0.27	+0.71
A3	+1.28	+1.75	-1.10	-0.77	+0.55	+0.88	+1.10	-1.05
A4	-1.30	-0.27	+0.12	-0.26	+0.99	+0.71	-0.71	-0.53
A5	+3.85	-2.18	-1.35	+0.72	-0.13	-2.35	+0.03	+0.50
$\bar{x}$	+0.71	+0.06	-0.63	-0.37	-0.33	-0.37	+0.02	-0.30
S.D.	+2.04	+1.52	+0.77	+0.95	+1.44	+1.31	+0.90	+1.41
S.E.l.	+0.91	+0.68	+0.35	+0.42	+0.64	+0.58	+0.40	+0.44
B1	+1.35	+0.79	+0.11	-0.14	-0.42	-1.00	+1.54	-0.25
B2	+0.72	+0.52	-0.43	+0.19	-0.01	-1.54	-0.18	+0.27
B3	+4.84	+0.40	-0.29	-0.10	-1.91	-0.73	+0.07	+2.30
B4	+0.35	+1.87	+1.54	+0.83	+0.14	+1.47	-0.09	-1.01
B5	+2.88	-1.61	-1.09	-1.40	+1.40	-1.65	+2.05	+1.45
B6	-0.80	+1.61	-0.10	-0.09	+1.51	+0.21	+2.45	+1.77
B7	+1.05	-0.29	-1.75	+0.67	-0.05	-1.82	-0.31	+0.52
$\bar{x}$	+1.49	+0.47	-0.29	-0.01	-0.08	-0.78	+0.79	+0.72
S.D.	+1.85	+1.17	+1.03	+0.73	+1.15	+1.21	+1.18	+1.30
S.E.l.	+0.70	+0.44	+0.39	+0.27	+0.44	+0.46	+0.45	+0.43
C1	+1.33	+5.10	-1.23	+1.51	-0.55	-1.47	+1.73	-2.79
C2	+0.44	-0.07	-0.52	-0.83	-0.71	+0.00	-0.00	-0.15
C3	-0.39	-0.26	+1.46	-0.83	-2.36	+0.80	-0.06	+2.14
C4	+1.18	-0.96	+0.32	-1.13	+0.32	-0.34	-0.59	+0.03
$\bar{x}$	+0.64	+0.95	+0.01	-0.32	-0.83	-0.25	+0.25	-0.04
S.D.	+0.79	+2.80	+1.16	+1.23	+1.12	+0.94	+1.01	+2.06
S.E.l.	+0.39	+1.40	+0.58	+0.61	+0.56	+0.47	+0.51	+1.03

Insulin-Umsatz ($\mu\text{E}/100\text{g x min}$) - Basaluntersuchung

Proband	-10'	0'	5'	10'	15'	20'	26'	32'
A1	- 2.09	+ 2.13	+ 5.23	-17.50	-29.21	- 5.58	- 0.98	- 1.87
A2	+ 0.28	- 0.25	-19.33	+ 4.31	- 3.67	- 5.60	+ 0.75	+ 1.33
A3	+ 2.09	+ 3.64	-33.65	- 6.66	+ 3.47	+ 1.43	+ 1.05	- 3.10
A4	- 2.98	- 0.52	+ 1.33	-12.37	+ 9.03	+ 6.35	- 2.46	- 1.44
A5	+10.32	- 7.89	-43.79	+20.88	- 1.84	-33.25	+ 0.06	+ 1.06
$\bar{x}$	+ 1.52	- 0.58	-18.04	- 2.27	- 4.44	- 7.33	- 0.32	- 0.80
S.D.	$\pm$ 5.31	$\pm$ 4.44	$\pm$ 21.36	$\pm$ 15.27	$\pm$ 14.70	$\pm$ 15.34	$\pm$ 1.43	$\pm$ 1.93
S.E.M.	$\pm$ 2.37	$\pm$ 1.98	$\pm$ 9.55	$\pm$ 6.83	$\pm$ 6.58	$\pm$ 6.86	$\pm$ 0.64	$\pm$ 0.86
B1	+ 2.62	+ 1.95	+ 1.94	- 1.26	- 2.26	- 4.66	+ 2.36	- 0.67
B2	+ 1.31	+ 0.62	- 4.74	+ 1.15	- 0.06	- 4.77	- 0.24	- 0.24
B3	+ 4.45	+ 0.61	- 4.38	- 0.45	- 6.53	- 0.77	+ 0.06	+ 1.61
B4	+ 1.49	+ 6.32	+ 9.56	+ 3.20	+ 0.89	+13.02	- 0.23	- 4.10
B5	+ 6.02	- 3.78	-17.75	- 8.05	+ 9.03	- 9.08	+ 1.93	+ 0.95
B6	- 1.76	+ 2.64	- 3.97	- 2.24	+ 5.90	- 0.58	+ 3.36	+ 2.73
B7	+ 0.63	+ 1.58	-38.23	+11.79	- 0.56	-13.20	- 0.26	+ 0.55
$\bar{x}$	+ 2.11	+ 1.42	- 8.22	+ 0.59	+ 0.92	- 2.70	1.00	0.12
S.D.	$\pm$ 2.31	$\pm$ 3.00	$\pm$ 15.56	$\pm$ 6.05	$\pm$ 5.15	$\pm$ 8.37	$\pm$ 1.51	$\pm$ 2.18
S.E.M.	$\pm$ 0.87	$\pm$ 1.14	$\pm$ 5.89	$\pm$ 2.29	$\pm$ 1.95	$\pm$ 3.16	$\pm$ 0.57	$\pm$ 0.82
C1	+ 4.34	+13.80	-12.25	+10.80	- 2.55	-12.36	+ 9.17	-17.72
C2	+ 1.03	- 0.07	- 1.89	- 7.17	- 9.07	+ 0.00	- 0.10	- 0.27
C3	- 0.79	- 0.34	+24.65	-15.60	-40.71	+ 9.80	- 0.10	+ 2.65
C4	+ 2.09	- 1.71	+ 1.65	- 4.76	+ 1.71	- 1.83	- 1.09	+ 1.22
$\bar{x}$	+ 1.67	+ 2.92	+ 3.04	- 4.18	-12.66	- 1.10	+ 1.97	- 3.53
S.D.	$\pm$ 2.14	$\pm$ 7.29	$\pm$ 15.57	$\pm$ 11.02	$\pm$ 19.22	$\pm$ 9.08	$\pm$ 4.82	$\pm$ 9.53
S.E.M.	$\pm$ 1.07	$\pm$ 3.64	$\pm$ 7.78	$\pm$ 5.51	$\pm$ 9.61	$\pm$ 4.54	$\pm$ 2.41	$\pm$ 4.77



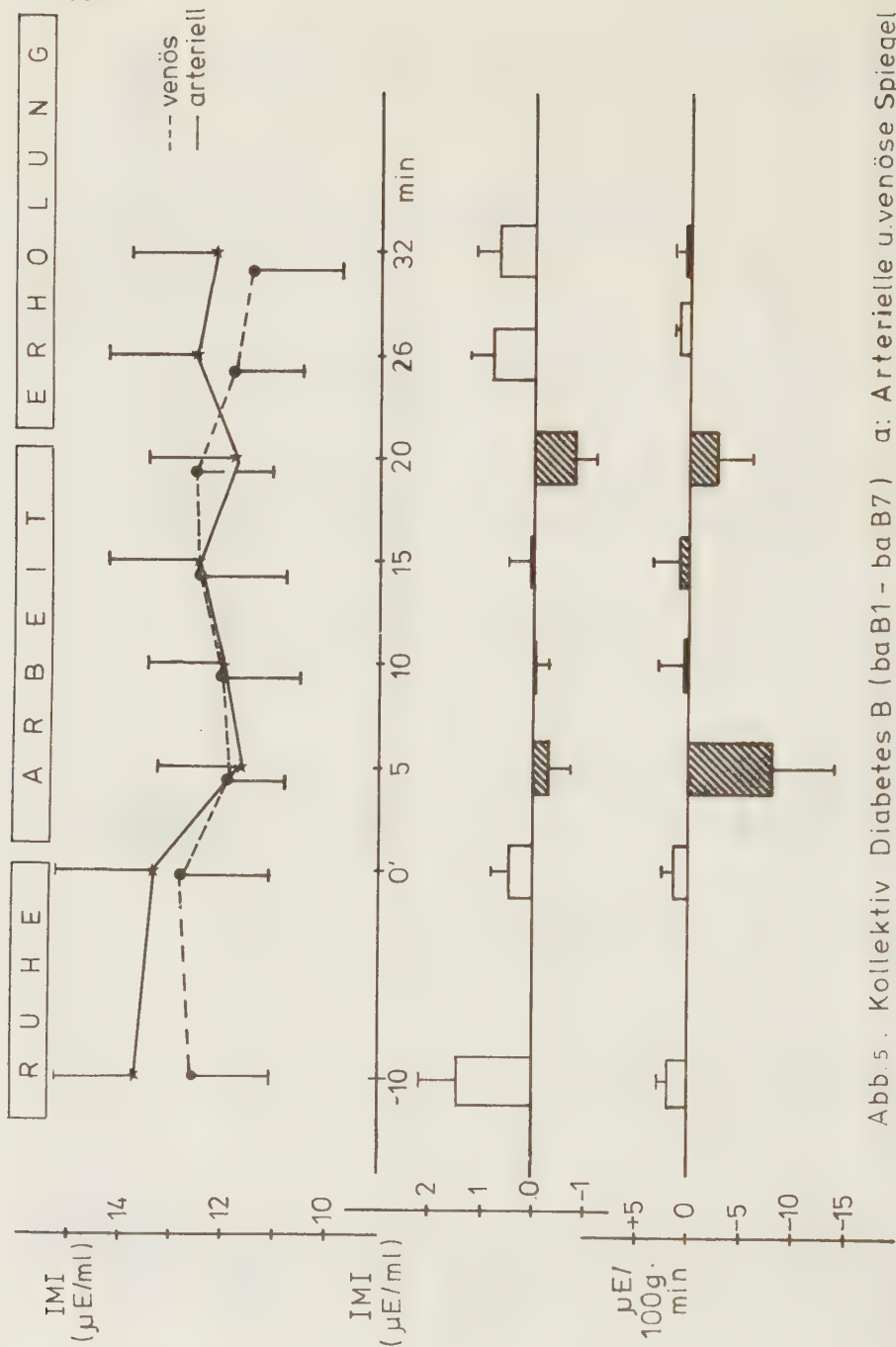
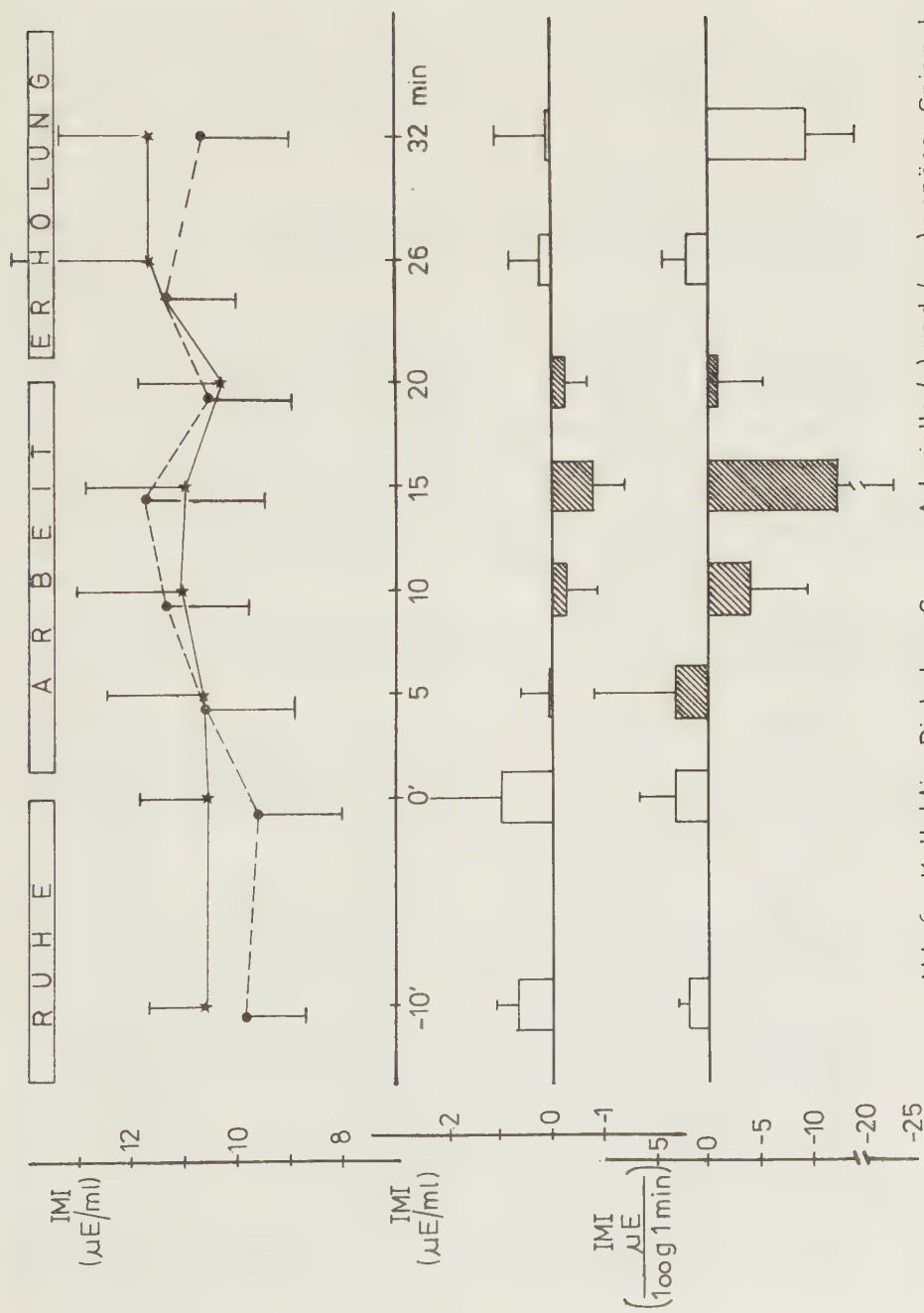


Abb. 5. Kollektiv Diabetes B (ba B1 - ba B7)

a: Arterielle u. venöse Spiegel
 b: Arterio venöse Differenzen
 c: Umsatz

$\bar{x} \pm S.E.N.$



V. Verhalten des peripheren Insulins bei Adipösen während totalen Fastens (Vgl. Abb. 7, Tab. 17-20, 21a,b)

Vorbemerkung: Wir mußten einen Patienten dieses Kollektivs, N 5, aus den Berechnungen herausnehmen, da seine basalen Insulinspiegel außerhalb 4s der Kontrollen und sogar außerhalb des 8s-Bereiches der übrigen Nulldiätpatienten lagen.

- a. Fehlt tagelang der Reiz der exogenen Nahrungszufuhr, sinken die mittleren arteriellen Insulinspiegel hoch signifikant (α 0,0125) gegenüber Kontrollpersonen, die nur einen halben Tag ohne Nahrung waren. Sie lagen mit $8,7 \mu\text{E/ml}$ sogar sicher unter denen der noch nie therapierten Diabetiker und waren somit die tiefsten arteriellen IMI-Konzentrationen aller untersuchten Kollektive in Ruhe.

Bei Arbeit fielen die Insulinkonzentrationen signifikant (α 0,025) um $1 \mu\text{E/ml}$.

Der auf eine 20-minütige Arbeit folgende IMI-Anstieg während Erholung war deutlich ($+ 2,5 \mu\text{E/ml}$) aber nicht signifikant.

- b. Die venösen IMI-Serumgehalte - die tiefsten Ruhewerte, die wir überhaupt gesehen haben - lagen fast regelmäßig unter den simultanen arteriellen Werten. Sie lagen bei Ruhe unter $8 \mu\text{E/ml}$ und neigten zu einem Anstieg während Arbeit. Ein tendenzieller Anstieg in der Erholungsphase war festzustellen.

- c. Daraus errechneten wir eine positive a-v-Differenz in Ruhe, die sich durch Arbeit signifikant veränderte (α 0,005). Die a-v-Differenzen kehrten sich im Mittel bei Arbeit über 20 Minuten ins Negative um ($- 0,7 \mu\text{E/ml}$); die a-v-Unterschiede betrugen somit bei den Kontrollen während Arbeit nur die Hälfte der Adipösen während totalen Fastens. Auch die Insulinfreisetzung in der Erholungsphase war immerhin halb so stark, wie die des arbeitenden Stoffwechselgesunden ($- 0,2 \mu\text{E/ml}$).

TABELLE 17

Insulin - ($\mu\text{E/ml}$) - arterielle Spiegel - Basaluntersuchungen - Kollektiv N

Proband	-10'	0'	5'	10'	15'	20'	26'	32'
N1	7.36	7.70	4.65	4.61	5.30	5.06	5.29	8.33
N2	6.57	6.53	6.71	5.85	6.11	6.44	7.96	6.34
N3	7.01	7.84	5.96	5.95	6.34	6.14	10.21	8.60
N4	11.10	15.23	14.95	13.86	13.50	9.92	14.55	12.64
N5	35.05	36.69	34.40	40.97	41.98	40.29	43.46	41.85
$\bar{x}$ (ohne N5)	8.01	9.33	8.07	7.57	7.81	6.89	9.50	8.93
S.D.	+ 2.09	+ 3.98	+ 4.67	+ 4.24	+ 3.82	+ 2.11	+ 3.92	+ 2.64
S.E.M.	+ 1.04	+ 1.99	+ 2.33	+ 2.12	+ 1.91	+ 1.05	+ 1.96	+ 1.32

TABELLE 18

Insulin ($\mu\text{E/ml}$) - venöse Spiegel - Basaluntersuchungen - Kollektiv N

Proband	-10'	0'	5'	10'	15'	20'	26'	32'
N1	6.11	5.48	6.17	4.80	4.74	4.47	8.22	8.58
N2	6.93	5.15	6.50	7.29	6.21	6.24	6.49	6.01
N3	6.35	7.17	6.99	6.99	7.28	7.73	9.38	9.53
N4	10.93	15.10	15.35	15.06	14.17	12.13	14.65	12.68
N5	31.90	34.00	35.94	39.11	39.03	39.74	42.13	40.65
$\bar{x}$ (ohne N5)	7.58	8.23	8.85	8.54	8.10	7.64	9.69	9.20
S.D.	+ 2.26	+ 4.67	+ 4.36	+ 4.49	+ 4.18	+ 3.28	+ 3.52	+ 2.76
S.E.M.	+ 1.13	+ 2.33	+ 2.18	+ 2.25	+ 2.09	+ 1.64	+ 1.76	+ 1.38

TABELLE 19

Insulin - ($\mu\text{E}/\text{ml}$) a-v-Differenzen - Basaluntersuchungen - Kollektiv N								
Proband	-10'	0'	5'	10'	15'	20'	26'	32'
N1	+ 1.25	+ 2.22	- 1.52	- 0.19	+ 0.56	+ 0.59	- 2.93	- 0.25
N2	- 0.36	+ 1.38	+ 0.21	- 1.44	- 0.10	+ 0.20	+ 1.47	+ 0.33
N3	+ 0.66	+ 0.67	- 1.41	- 1.04	- 0.94	- 1.59	+ 0.83	- 0.93
N4	+ 0.17	+ 0.13	- 0.40	- 1.20	- 0.67	- 2.21	- 0.10	- 0.04
N5	+ 3.15	+ 2.69	- 1.54	+ 1.86	+ 2.95	+ 0.55	+ 1.33	+ 1.21
$\bar{x}$ (ohne N5)	+ 0.43	+ 1.10	- 0.78	- 0.97	- 0.29	- 0.75	- 0.60	- 0.22
S.D.	$\pm$ 0.69	$\pm$ 0.91	$\pm$ 0.83	$\pm$ 0.54	$\pm$ 0.66	$\pm$ 1.36	$\pm$ 1.83	$\pm$ 0.53
S.E.M.	$\pm$ 0.34	$\pm$ 0.45	$\pm$ 0.42	$\pm$ 0.27	$\pm$ 0.33	$\pm$ 0.68	$\pm$ 0.91	$\pm$ 0.26

TABELLE 20

Insulin - ($\mu\text{E}/\text{min.100g}$) Umsatz - Basaluntersuchungen - Kollektiv N								
Proband	-10'	0'	5'	10'	15'	20'	26'	32'
N1	+ 1.42	+ 4.04	-32.24	- 0.83	+ 1.45	+ 1.36	- 3.08	- 0.20
N2	- 0.46	+ 3.04	+ 3.58	- 8.84	- 0.28	+ 0.75	+ 2.12	+ 0.71
N3	+ 1.34	+ 1.41	-23.79	- 9.99	- 2.94	- 6.61	+ 1.32	- 3.40
N4	+ 0.62	+ 0.21	- 1.55	-14.50	- 7.81	-20.69	- 0.16	- 0.11
N5								
$\bar{x}$ (ohne N5)	+ 0.73	+ 2.18	-13.50	- 8.54	- 2.40	- 6.30	+ 0.05	- 0.75
S.D.	$\pm$ 0.87	+ 1.70	+17.24	+ 5.69	+ 4.04	+10.26	+ 2.29	+ 1.81
S.E.M.	$\pm$ 0.44	+ 0.85	+ 8.62	+ 2.85	+ 2.02	+ 5.13	+ 1.15	$\pm$ 0.91

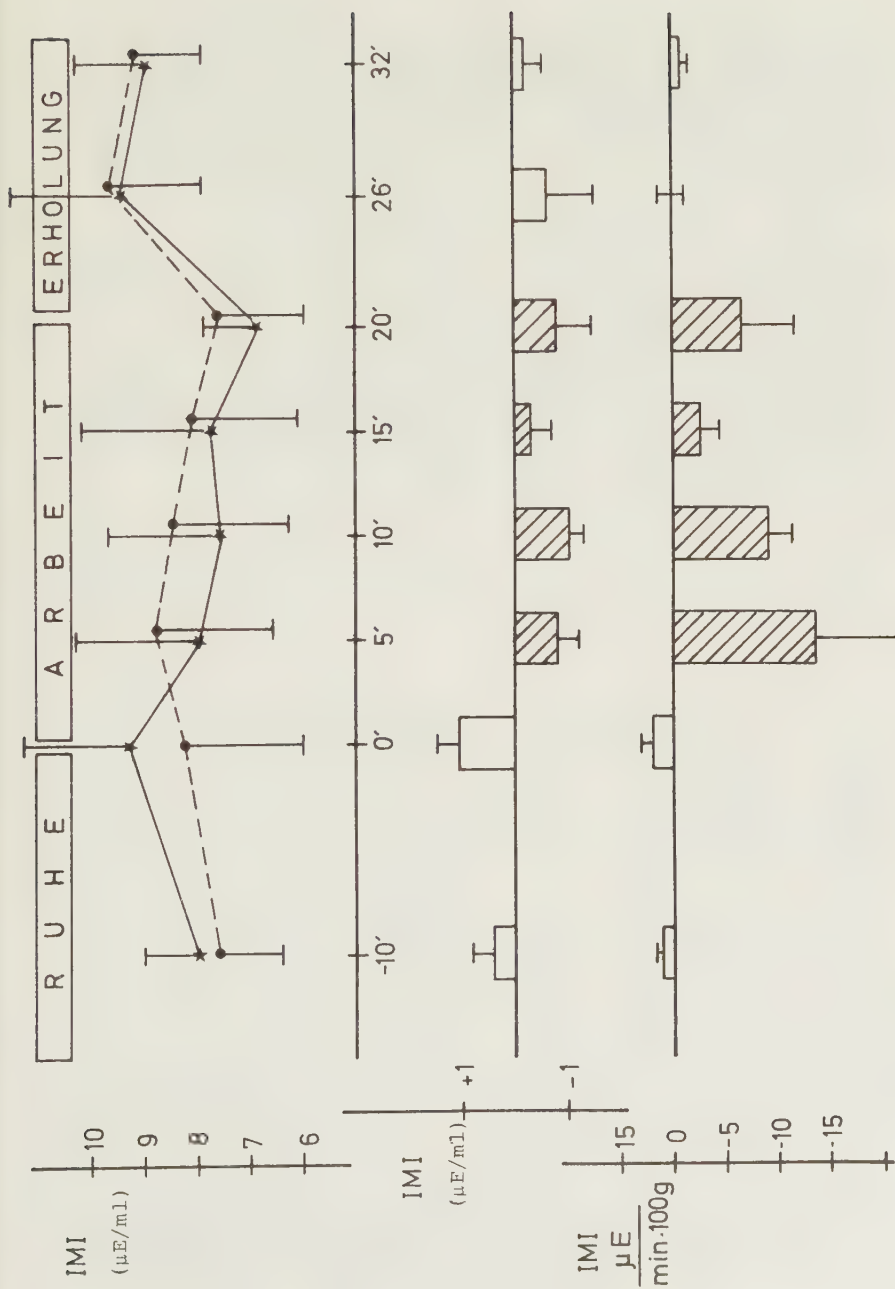


Abb. 7 Kollektiv N
 $\bar{X} \pm S.E.M$
 a. Arterielle (—) und venöse (---) Spiegel
 b. Arterio-venöse Differenz
 c. Umsatz

- d. Die Berechnung des Umsatzes ergab bei den Hungerprobanden mit $1,5 \mu\text{E}/\text{min} \times 100\text{g}$ eine Speicherung in der von den Kontrollen bekannten Höhe.

Auch bei Arbeit glichen die Adipösen während totalen Fastens den Kontrollen: sie zeigten die uns von anderen Kollektiven bekannte Insulinabgabe ($- 7,4 \mu\text{E}/\text{min} \times 100\text{g}$), signifikant verschieden von der Ruhe-Speicherung (Alpha 0,025).

Interessant war die in keinem anderen Kollektiv unserer Untersuchungsreihe beobachtete schwache, aber zur Ruhephase signifikante Insulinfreisetzung nach Arbeit.

Wir konnten aus diesen Ergebnissen errechnen, daß sich das Muskelgewebe von Nulldiätpatienten fünfmal so lange in Ruhe befinden muß, um die von einer 20-minütigen Arbeit freigesetzte Insulinmenge speichern zu können.

TABELLE 21a

=====

Arterielle und venöse Insulinspiegel sowie a-v-Differenzen und Umsatz von Insulin unter Grundumsatzbedingungen, vor, während und nach Arbeit in den einzelnen Gruppen (in $\mu\text{E/ml}$ $\pm$ S.D.)

=====

Arteriell				Venös			
Kollektiv	RUHE n=2	ARBEIT n=4	ERHOLUNG n=2	Kollektiv	RUHE n=4	ARBEIT n=2	ERHOLUNG n=2
K	13.81	12.26	12.59	K	12.74	12.65	11.57
n=9	± 5.37	± 4.36	± 4.26	n=9	± 4.26	± 4.57	± 4.06
A	8.73	8.42	9.25	A	8.35	8.85	9.44
n=5	± 3.03	± 2.93	± 4.15	n=5	± 2.31	± 3.20	± 3.95
B	13.60	12.01	12.40	B	12.72	12.26	11.65
n=7	± 4.52	± 3.85	± 4.15	n=7	± 4.19	± 3.57	± 3.98
C	10.57	10.73	11.18	C	9.77	11.08	11.03
n=4	± 2.82	± 3.23	± 4.04	n=4	± 2.63	± 3.24	± 3.91
D	11.31	10.57	11.11	D	10.62	10.90	10.82
n=16	± 4.20	± 3.72	± 4.22	n=16	± 3.78	± 3.64	± 3.94
N	8.67**	7.59	9.24	N	7.90	8.28	9.44
n=5	± 3.02	± 3.46	± 3.11	n=5	± 3.41	± 3.70	± 2.94

a-v-Differenz				Umsatz in $\mu\text{E}/100\text{g} \cdot \text{min}$			
Kollektiv	RUHE n=2	ARBEIT n=4	ERHOLUNG n=2	Kollektiv	RUHE n=2	ARBEIT n=4	ERHOLUNG n=2
K	+1.08**	-0.32	+0.64	K	+1.49*	-6.40	+1.92
n=9	± 2.31	± 2.19	± 1.62	n=9	± 4.12	± 25.35	± 6.89
A	+0.38	-0.43	-0.19	A	+0.41	-8.36	-0.56
n=5	± 1.73	± 1.06	± 0.98	n=5	± 4.74	± 16.70	± 1.62
B	+0.98**	-0.25***	+0.75	B	+1.64*	-2.35 *	+0.56
n=7	± 1.58	± 1.05	± 1.14	n=7	± 2.70	± 9.88	± 1.86
C	+0.80	-0.35	+0.10	C	+1.71*	-3.72	-0.78
n=4	± 1.91	± 1.05	± 1.51	n=4	± 5.02	± 14.01	± 7.59
D	+0.75	-0.33	+0.29	D	+1.49	-4.47	-0.13
n=16	± 1.67	± 1.04	± 1.23	n=16	± 3.98	± 13.39	± 3.95
N	+0.77**	-0.70	-0.20	N	+1.52**	-7.40	-0.35*
n=5	± 0.83	± 0.85	± 1.32	n=5	± 1.54	± 10.33	± 1.96

Signifikanzen: *=0,05, **=0,025, ***=0,0125, ****=0,005

Die Signifikanzen gelten für die Phasen, zwischen denen die * stehen, Signifikanz zwischen Ruhe und Erholung erkennt man am *-Zeichen nach Erholung.

TABELLE 21b Übersicht über die signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Kollektiven

arterielle Insulin-konz.in Ruhe						
0,0125	n.s.	0,0125	0,05	N		N
n.s.	n.s.	n.s.	C		C	0,005
n.s.	0,0125	B		B	n.s.	0,005
0,0125	A		A	0,005	0,025	n.s.
K		K	0,0125	n.s.	n.s.	0,005
0,05	D	D	0,05			
arterielle Insulin-Konz.bei Arbeit						

arterielle Insulin-Konz.-Erholung						
0,025	n.s.	0,035	n.s.	N		N
n.s.	n.s.	n.s.	C		C	n.s.
n.s.	0,05	B		B	n.s.	n.s.
0,035	A		A	0,035	n.s.	n.s.
K		K	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
n.s.	D					
arterio-venöse Insulindiff.Erholung						

K = Kontrollen A = Diabetes m.-diätetisch eingestellt

B = Diabetes m.-medikamentös oder mit Insulin eingestellt

C = Diabetes m.-subklinischer N = Adipöse unter Nulldiät

D = alle Diabetiker

venöse Insulin-Konzentrationen-Ruhe						
0,0125	n.s.	0,0125	0,035	N		N
0,025	n.s.	0,035	C		C	0,005
n.s.	0,0125	B		B	n.s.	0,005
0,005	A		A	0,005	0,035	n.s.
K		K	0,005	n.s.	n.s.	0,005
venöse Insulin-Konz. bei Arbeit						

Signifikanzstufen: n(icht)s(ignifikant)/0,05/0,035/0,025/0,0125/0,005/0,0005 (WILCOXON)

VI. Das Verhalten des peripheren Insulins während Muskel-
arbeit unter kontinuierlicher Glukosebelastung bei
Stoffwechselgesunden und Diabetikern. (Tab.21-25, Abb.8-10)

Vorbemerkung: Die Insulinspiegel eines Diabetikers (S3) waren bereits basal signifikant über dem Mittel aller anderen erhöht ($45 \mu\text{E/ml}$). Zu den Zeitpunkten, da sie außerhalb der 2s-Spanne lagen ($-45'$ bis $-15'$) wurden sie nicht berücksichtigt.

- a. Die basalen arteriellen Insulinkonzentrationen der Probanden mit der stark ausgeprägten Fähigkeit zur Insulinsekretion (Gruppe S) lagen in der Höhe der unter Grundumsatzbedingungen untersuchten Stoffwechselgesunden ($13 \mu\text{E/ml}$ Gruppe K).

Probanden mit mäßiger Insulinsekretion (Gruppe T) zeigten dies trendmäßig schon mit basal niedrigeren Spiegeln ($12 \mu\text{E/ml}$), wobei die arteriellen Insulinkonzentrationen sogar überwiegend unter $10 \mu\text{E/ml}$ lagen.

Die 2 Diabetiker vom Erwachsenentyp mit völliger Insulinsekretionsstarre (Gruppe U) deuteten ihr Verhalten ebenfalls mit niedrigen Basalwerten unter $10 \mu\text{E/ml}$ an.

Die arteriellen IMI-Spiegel unter Grundumsatzbedingungen aller 16 Patienten korrelierten ($P < 0,05$) mit dem nach BROCA berechneten relativen Gewicht in der Weise, daß Übergewichtige höhere IMI-Spiegel hatten.

Auf die angegebene i.v.-Glukosegabe zeigten sich völlig unterschiedliche Reaktionen:

Die Initialsteigerung nach 15 Minuten der Probanden mit starker Insulinsekretion (Gruppe S) belief sich auf das Dreifache ($40 \mu\text{E/ml}$). Die Insulinkonzentration nach weiteren 15 Minuten ließ sich nochmals um 25%, nach der dritten Viertelstunde nur noch um 10% steigern. Darin könnte sich eine logarithmische Kurve mit den Werten $-45'$: $+ 3 \cdot 10^2\%$ / $-30'$: $3 \cdot 10^1\%$ / $-15'$: $3 \cdot 10^0\%$ Steigerungsvermögen verbergen.

Einen wesentlichen niedrigeren Initialanstieg nach 15' auf die gleiche Glukosestimulation auf das Doppelte des Ausgangswertes hatten Probanden der Gruppe T. Diese Patienten mit insgesamt mäßiger pankreatischer Insulinproduktion erreichten damit schon eine Art Plateau das sich anschließend nur noch mit 10% pro 15 Minuten anhob.

Keine pankreatische Insulinsekretion zeigten zwei Alters- Diabetiker (Gruppe U) trotz Verabreichung von i.v.-Glukose.

Die Glukoseantwort in dieser 45-minütigen Ruhephase unterschied sich somit signifikant zwischen den Gruppen S und T, wie zwischen Diabetikern und Stoffwechselgesunden.

Wie beeinflussten nun gleichmäßige Kontraktionsbewegungen der untersuchten Unterarmmuskulatur das durch Glukose kontinuierlich stimulierte Insulin?

Über die gesamte Ruhephase stieg das arterielle Insulin der Gruppe S (starke Sekretionsantwort) minütlich um $0,9 \mu\text{E}$ an. Dabei war die Initialsteigerung doppelt so hoch; sie ermäßigte sich gegen Ende der Ruhephase auf die Hälfte. Durch die Muskelarbeit zeigte sich keine Änderung gegenüber der Endruhephase. Probanden mit mäßiger pankreatischer Insulinsekretionsfähigkeit zeigten dies durch den geringen Anstieg des arteriellen Insulins um $0,3 \mu\text{E}/\text{min}$. Er war für die Phasen vor, während und nach der Arbeit im Mittel gleich.

Diabetiker ohne pankreatische Insulinsekretion auf Glukose-reiz (Gruppe U) lassen ihre Insulinausschüttung durch Arbeit nicht verändern.

- b. Die basalen venösen Insulinkonzentrationen lagen tendenziell unter den simultanen arteriellen der Gruppe S. Dieser Unterschied von $1 \mu\text{E}/\text{ml}$ vergrößerte sich durch die Glukosebelastung bis auf $5 \mu\text{E}/\text{ml}$; ansonsten verlief die venöse Kurve ziemlich parallel zur arteriellen.

Die venöse Kurve wich nicht signifikant bei der Gruppe T von

der arteriellen ab. Doch überschritt sie - ohne erkennbare Ursache - in Ruhe (-15') plötzlich die arterielle, um bei 0' wieder zurückzukehren.

Der Anstieg während der Arbeit bei Patienten mit starker Insulinausschüttung lag venös mit $1,0 \mu\text{E/ml}$ sowohl über dem venösen und arteriellen Ruheanstieg wie über dem arteriellen Arbeitsanstieg, so daß die venöse Kurve die arterielle bei Arbeit meistens überschritt.

Ein völlig unsystematisches Über- und Unterschreiten der arteriellen Kurve sahen wir dagegen bei Arbeit in der Gruppe T.

Patienten mit der Fähigkeit viel Insulin auszuschütten zeigten somit auch, daß sie nach der Arbeit ihre venösen Konzentrationen auf 140% des Niveaus bei Arbeitsbeginn anheben, wesentlich stärker als die arterielle Zufuhr die nach Arbeit nur bei 120% des Niveaus bei Arbeitsbeginn lag.

Fehlt das Vermögen zentral reichlich Insulin auszuschwemmen, fehlt auch die Fähigkeit, peripher die venösen Spiegel über die arteriellen steigen zu lassen:

Nach der Arbeit hatte die Gruppe T arteriell um 30%, venös nur um 20% die Konzentrationen angehoben.

Der Erholungsanstieg der venösen Insulinspiegel unter weiterer i.v.-Glukosebelastung erschöpfte sich bei der Gruppe S auf nur mehr $+ 0,3 \mu\text{E/min}$ und blieb damit merklich unter den arteriellen ($0,9 \mu\text{E/min}$).

Gruppe T steigerte die venösen Erholungswerte mit einem geringen Plus von $0,2 \mu\text{E/min}$.

- c. Die arteriovenösen Differenzen unter Ruhe und Grundumsatzbedingungen aller drei Kollektive dieser Untersuchungsreihe (-45') waren positiv und stimmten mit $+ 1 \mu\text{E/ml}$ mit der ersten Untersuchungsreihe überein, waren somit bei allen nachweisbar.

Durch die Glukosebelastung fanden wir einen signifikanten Anstieg der arteriovenösen Differenzen beim stark insulinsezernierenden Ruhe-Stoffwechsel ($+ 4 \mu\text{E/ml}$, $+ 5 \mu\text{E/ml}$, $+ 2 \mu\text{E/ml}$).

Patienten mit mäßiger Insulinreaktion ändern ihre a-v-Differenzen kaum, Patienten mit unzulänglicher Insulinsekretion verhalten sich ebenso.

Der arterio-venöse Unterschied während Arbeit wird, wie wir es beim ersten Untersuchungspunkt gesehen haben, negativ ($-2,7 \mu\text{E/ml}$) und damit erscheint dieser Befund viel deutlicher als unter Grundumsatzbedingungen.

Voraussetzungen für die Umkehr arterio-venöser Differenzen vom eindeutig Positiven zum eindeutig Negativen um insgesamt $8 \mu\text{E/ml}$ war das Vorhandensein starker Insulinkonzentrationen. Probanden mit mäßiger Insulinausschüttung zeigten zwar bei der ersten und letzten Arbeitsserumgewinnung negative a-v-Differenzen ($-2,2$ und $-1,3 \mu\text{E/ml}$) kehrten aber in der Zwischenzeit zur ursprünglichen Situation zurück, so daß sich im Mittel nur $+0,4 \mu\text{E/ml}$ über 20 Minuten Arbeit errechnete.

Nach der Arbeit stellte sich der Stoffwechsel mit starker Insulinproduktion wieder auf den letzten Ruhewert ein ($+4$, $+2 \mu\text{E/ml}$), während bei Probanden mit mäßiger Insulinsekretion sich positive wie negative Differenzen gleichmäßig verteilten.

d. Umsatz: Es kann auch hier errechnet werden, daß minütlich im Mittel bei Arbeit von Patienten mit starker Insulinsekretionsfähigkeit $27,6 \mu\text{E}$ pro 100g Feuchtgewebe freigesetzt wurden. Unsere gesamte untersuchte Muskelmasse von schätzungsweise 500g hatte somit über die Gesamtarbeitsdauer fast $3000 \mu\text{E}$ freigegeben, auf eine Stunde Arbeitszeit extrapoliert ergäbe sich eine Produktion von über $8000 \mu\text{E}$ Insulin.

Somit liegt unter Glukosebelastung eine 4-5fach gegenüber Grundumsatzbedingungen gesteigerte Insulinproduktion vor. Patienten mit geringer Insulinproduktion zeigten faktisch keine Insulinproduktion, sondern sogar im Mittel während Arbeit eine Insulinspeicherung.

Die beiden Diabetiker mit absoluter Pankreasstarre lagerten trotzdem kein Insulin während Arbeit an, sondern setzten im Mittel pro 100g und Minute $5,4 \mu\text{E}$ frei, etwa $1/5$ des entsprechenden Wertes Gesunder und nur wenig mehr als die Diabetiker der ersten Untersuchungsreihe ohne Glukosezugabe.

TABELLE 22

Insulin - arterielle Spiegel ($\mu\text{E}/\text{ml}$) - während kontinuierlicher i.v.-Glukosebelastung

Proband	-45'	-30'	-15'	0'	5'	10'	15'	20'	26'	32'
S1	17.54	36.78	55.62	79.72	88.14	100.11	112.89	111.83	142.09	121.94
S2	10.67	40.77	42.93	63.00	70.09	71.05	79.09	64.43	77.41	98.15
S3	(45.59)	(73.16)	(95.74)	61.14	68.92	71.30	69.36	65.44	75.22	80.50
S4	13.16	48.91	54.79	57.09	61.59	57.56	61.94	62.67	76.05	75.18
S5	11.54	47.70	53.84	51.50	56.34	71.41	78.22	72.22	89.44	65.75
S6	14.13	34.39	44.37	41.63	49.37	45.33	51.77	56.93	56.28	59.22
S7	9.96	35.36	29.55	29.55	32.32	29.72	37.77	35.76	40.39	42.88
$\bar{x}$	12.83	40.65	50.31	54.80	60.97	63.78	70.15	67.04	79.55	77.66
+ S.D.	2.78	6.33	6.13	16.10	17.61	22.46	23.90	22.88	31.94	26.10
$\pm$ S.E.M.	1.13	2.58	2.74	6.09	6.66	8.49	9.03	8.65	12.07	9.86
T1	9.06	13.61	17.22	20.06	26.46	38.76	42.57	37.92	43.10	59.24
T2	20.94	25.18	29.20	31.83	29.77	36.73	34.27	33.89	36.01	37.32
T3	16.80	27.10	31.90	31.33	32.96	39.88	36.47	35.75	34.28	35.24
T4	8.96	20.25	21.27	26.80	25.81	32.26	31.64	34.26	38.47	39.79
T5	9.17	20.27	24.33	27.06	31.06	31.16	33.30	34.37	34.03	38.43
T6	8.49	17.40	20.62	23.73	26.01	28.69	27.40	27.45	25.00	26.27
T7	8.52	13.16	12.45	16.48	16.26	16.90	19.03	19.57	17.60	17.94
$\bar{x}$	11.71	19.57	22.43	25.33	26.00	32.05	32.10	31.89	32.64	36.32
+ S.D.	5.04	5.33	6.71	5.66	5.44	7.85	7.39	6.31	8.60	12.80
$\pm$ S.E.M.	1.91	2.01	2.54	2.14	2.06	2.07	2.79	2.38	3.25	4.84
U1	9.11	8.27	8.37	7.59	8.22	8.95	9.40	9.11	9.15	8.47
U2	9.71	8.39	10.10	10.34	8.95	9.99	9.93	9.52	11.05	8.84
$\bar{x}$	9.41	8.33	9.24	8.97	8.59	9.47	9.67	9.32	10.10	8.66
+ S.D.	0.42	0.08	1.22	1.95	0.52	0.74	0.37	0.29	1.35	0.26
$\pm$ S.E.M.	0.30	0.06	0.87	1.37	0.37	0.52	0.27	0.21	0.95	0.19

TABELLE 23

=====

Insulin - venöse Spiegel ($\mu\text{E/ml}$) - während kontinuierlicher i.v.-Glukosebelastung

=====

Proband	-45'	-30'	-15'	0'	5'	10'	15'	20'	26'	32'
S1	11.35	30.23	47.65	71.76	96.61	120.07	116.07	128.73	133.63	120.49
S2	11.34	38.46	45.01	54.33	70.02	63.15	79.08	60.15	69.78	96.55
S3	(49.90)	(65.67)	(94.19)	64.27	68.75	72.15	74.03	68.23	70.42	64.97
S4	11.59	46.23	43.71	53.37	61.24	70.96	62.85	74.53	72.45	77.06
S5	9.57	42.12	50.17	43.78	61.63	70.96	73.62	60.76	63.86	60.29
S6	13.63	32.54	36.57	39.54	45.48	47.84	52.57	65.85	55.15	57.18
S7	9.46	32.20	23.77	23.77	28.50	31.04	32.55	35.02	40.31	39.52
$\bar{x}$	11.16	36.96	44.62	50.12	61.75	67.54	70.11	70.47	72.23	73.72
+ S.D.	1.53	6.36	5.14	16.04	21.23	30.11	25.79	28.56	29.33	27.14
+ S.E.M.	0.63	2.60	2.30	6.06	8.02	12.29	36.78	10.80	11.08	10.26
T1	6.81	11.43	14.66	18.99	30.59	33.49	30.46	39.72	31.59	53.10
T2	19.31	24.53	53.10	31.88	40.95	38.45	39.81	43.22	30.79	40.94
T3	16.58	28.57	31.02	32.99	34.77	35.78	34.62	35.51	35.05	36.60
T4	8.51	17.32	19.50	25.38	27.39	31.73	32.21	34.28	36.28	39.46
T5	8.74	18.26	24.26	27.66	30.07	30.10	32.48	34.45	35.26	35.67
T6	9.32	15.91	20.74	22.93	23.15	22.20	19.07	29.28	22.35	22.77
T7	7.16	11.70	11.41	13.78	16.89	15.55	18.78	17.75	20.06	17.90
$\bar{x}$	10.92	18.25	24.96	24.80	29.12	29.61	29.63	33.46	30.20	35.21
+ S.D.	4.94	6.35	13.94	6.88	7.78	8.05	7.89	8.21	6.49	11.74
+ S.E.M.	1.87	2.40	5.27	2.60	2.94	3.04	2.98	3.10	2.45	4.44
U1	8.69	7.07	9.96	8.98	9.81	9.93	12.17	10.45	9.20	9.48
U2	8.43	7.98	6.74	7.16	8.78	9.24	8.51	9.97	10.70	9.48
$\bar{x}$	8.56	7.53	8.35	8.07	9.30	9.59	10.34	10.21	9.95	9.48
+ S.D.	0.18	0.64	2.28	1.29	0.73	0.49	2.59	0.34	1.06	0.00
+ S.E.M.	0.13	0.46	1.61	0.91	0.51	0.35	1.83	0.24	0.75	0.00

TABELLE 24

Insulin - arterio-venöse Differenzen ($\mu\text{E/ml}$) - während kontinuierlicher i.v.-Glukosebelastung

Proband	-45'	-30'	-15'	0'	5'	10'	15'	20'	26'	32'
S1	+ 6.19	+ 6.55	+ 7.17	+ 7.96	- 8.47	-19.96	- 3.40	-16.90	+ 8.46	+ 1.45
S2	- 0.67	+ 2.31	- 2.08	- 8.67	+ 0.07	+ 7.90	+ 0.01	+ 4.28	+ 7.63	+ 1.60
S3	- 4.31	+ 7.49	+ 1.55	- 3.13	+ 0.17	- 0.85	- 4.67	- 2.79	+ 4.80	(+15.53)
S4	+ 1.57	+ 2.28	+11.08	+ 3.72	+ 0.35		- 0.91	-11.53	+ 3.60	- 1.88
S5	+ 1.99	+ 5.58	+ 3.67	+ 7.72	- 5.29	+ 0.45	+ 4.60	+17.01	(+25.58)	+ 5.46
S6	+ 1.50	+ 1.85	+ 7.80	+ 2.09	+ 3.89	- 2.51	- 0.80	- 8.92	+ 1.13	+ 2.04
S7	+ 0.50	+ 3.16	+ 5.78	+ 3.82	- 1.32	- 1.32	+ 5.22	+ 0.74	+ 0.08	+ 3.36
$\bar{x}$	+ 0.97	+ 4.17	+ 5.00	+ 1.93	- 1.51	- 2.71	+ 0.01	- 2.59	+ 4.28	+ 2.01
+S.D.	3.15	2.31	4.36	5.98	4.10	9.23	3.72	11.31	3.38	2.42
+S.E.M.	1.19	0.87	1.65	2.26	1.55	3.77	1.41	4.27	1.38	0.99
T1	+ 2.25	+ 2.18	+ 2.56	+ 1.01	- 4.13	+ 5.29	+12.11	+ 0.20	+11.51	+ 6.11
T2	+ 1.63	+ 0.65	(-23.90)	- 0.05	-11.18	- 1.72	- 5.54	- 9.33	- 0.78	- 3.62
T3	+ 0.32	- 1.47	+ 0.88	- 1.66	- 1.81	+ 4.10	+ 1.85	+ 0.25	- 0.77	- 1.36
T4	+ 0.45	+ 2.93	+ 1.77	+ 0.99	- 1.58	+ 0.53	- 0.51	- 0.02	+ 2.05	+ 0.33
T5	+ 0.43	+ 2.01	+ 0.07	- 0.60	+ 0.99	+ 1.06	+ 0.82	- 0.08	- 1.26	+ 2.76
T6	- 0.83	+ 1.49	- 0.12	+ 0.80	+ 2.86	+ 6.49	+ 8.33	- 1.83	+ 2.65	- 3.50
T7	+ 1.36	+ 1.46	+ 1.04	+ 2.75	- 0.63	+ 1.35	+ 0.25	+ 1.82	- 2.46	+ 0.01
$\bar{x}$	+ 0.80	+ 1.32	+ 1.03	+ 0.47	- 2.21	+ 2.40	+ 2.47	- 1.29	- 0.10	+ 0.11
+S.D.	1.02	1.42	1.02	1.41	4.53	2.85	5.89	3.71	2.00	3.48
+S.E.M.	0.39	0.54	0.41	0.53	1.71	1.08	2.23	1.40	0.08	1.31
U1	+ 0.42	+ 1.32	+ 0.14	+ 1.36	- 0.86	+ 0.06	- 2.24	- 0.93	+ 1.85	- 0.64
U2	+ 1.28	+ 0.29	+ 1.63	+ 0.43	- 0.56	- 0.29	+ 0.89	- 0.86	- 1.55	- 1.01
$\bar{x}$	+ 0.85	+ 0.81	+ 0.89	+ 0.90	- 0.71	- 0.12	- 0.68	- 0.90	+ 0.15	- 0.83
+S.D.	0.61	0.73	1.05	0.66	0.21	0.25	2.21	0.05	2.40	0.26
+S.E.M.	0.43	0.51	0.75	0.46	0.15	0.18	1.56	0.03	1.70	0.19

TABELLE 25

=====

Insulin - Umsatz ($\mu\text{E}/\text{min} \cdot 100\text{g}$) - während kontinuierlicher i. v. -Glukoselastung

=====

Proband	-45'	-30'	-15'	0'	5'	10'	15'	20'	26'	32'
S1	+17.95	+19.32	+19.72	+23.88	-125.36	-276.05	-31.96	-140.78	+32.91	+ 7.00
S2	- 0.56	+ 2.54	- 2.14	-23.06	+ 0.63	+62.41	+ 0.05	+25.77	+ 6.94	+ 1.55
S3	- 6.47	+ 5.84	+ 1.60	- 5.35	+ 2.54	- 8.19	-20.22	- 7.06	+ 7.15	+12.11
S4	+ 5.13	+13.93	+24.15	+ 5.69	+ 3.47		- 5.57	-104.00	+ 6.70	- 3.14
S5	+ 5.09	+ 5.58	+ 6.46	+37.91	-56.07	+ 2.82	+15.50	+34.02	+42.72	+ 9.94
S6	+ 2.00	+ 2.46	+ 9.28	+ 3.05	+54.46	- 9.71	- 3.81	-102.76	+ 1.89	+ 5.69
S7	+ 1.03	+ 5.78	+11.91	+ 8.71	-54.27	-13.74	+22.45	+ 2.60	+ 0.14	+ 5.95
$\bar{x}$	+ 3.45	+ 7.92	+10.14	+ 7.26	-24.94	-40.41	- 3.37	-41.74	+14.06	+ 5.58
+ S.D.	7.51	6.31	9.39	19.65	58.36	118.88	18.89	71.73	16.69	5.10
+ S.E.M.	2.84	2.39	3.55	7.43	22.06	48.53	7.14	27.11	6.31	1.93
T1	+ 2.72	+ 2.64	+ 3.66	+ 1.05	-93.46	+53.86	+125.22	+ 1.17	+45.23	+15.90
T2	+ 1.63	+ 2.85	(-56.90)	- 0.06	(-259.26)	- 8.45	-47.26	-57.57	- 2.02	-13.54
T3	+ 0.93	- 1.63	+ 0.66	- 9.51	-52.60	+39.89	+11.01	+ 3.00	- 1.42	- 8.08
T4	+ 0.87	+ 5.65	+ 3.97	+ 1.59	- 5.46	- 3.41	- 3.50	- 0.10	+ 7.87	+ 1.61
T5	+ 0.55	+ 1.49	+ 0.07	- 0.31	+ 7.06	+ 6.88	+ 5.26	- 0.44	- 1.81	+ 4.98
T6	- 5.35	+ 2.77	+ 0.33	+ 4.42	+40.04	+56.07	+98.46	-18.72	+19.85	-18.55
T7	+ 2.99	+ 2.19	+ 2.34	+ 7.87	-10.64	+23.72	+ 3.17	-16.67	- 7.60	+ 0.03
$\bar{x}$	+ 0.62	+ 2.28	+ 1.84	+ 0.72	-19.84	+24.08	+27.48	- 8.01	+ 8.59	- 2.53
+ S.D.	2.79	2.16	1.73	5.35	46.89	26.68	61.23	24.17	18.50	11.74
+ S.E.M.	1.05	0.82	0.70	2.02	19.14	10.08	23.14	9.13	6.99	4.44
U1	+ 0.80	+ 1.69	+ 0.32	+ 2.87	-13.62	+ 0.30	-16.51	- 7.33	+ 3.89	- 0.70
U2	+ 1.70	+ 0.31	+ 3.50	+ 0.46	- 5.47	- 4.20	+ 5.92	- 2.45	- 1.09	- 0.59
$\bar{x}$	+ 1.25	+ 1.00	+ 1.91	+ 1.67	- 9.55	- 1.95	- 5.30	- 4.89	+ 1.40	- 0.65
+ S.D.	0.64	0.98	0.25	1.70	5.76	3.18	15.86	3.45	3.52	0.08
+ S.E.M.	0.45	0.69	1.59	1.20	4.08	2.25	11.22	2.44	2.49	0.06

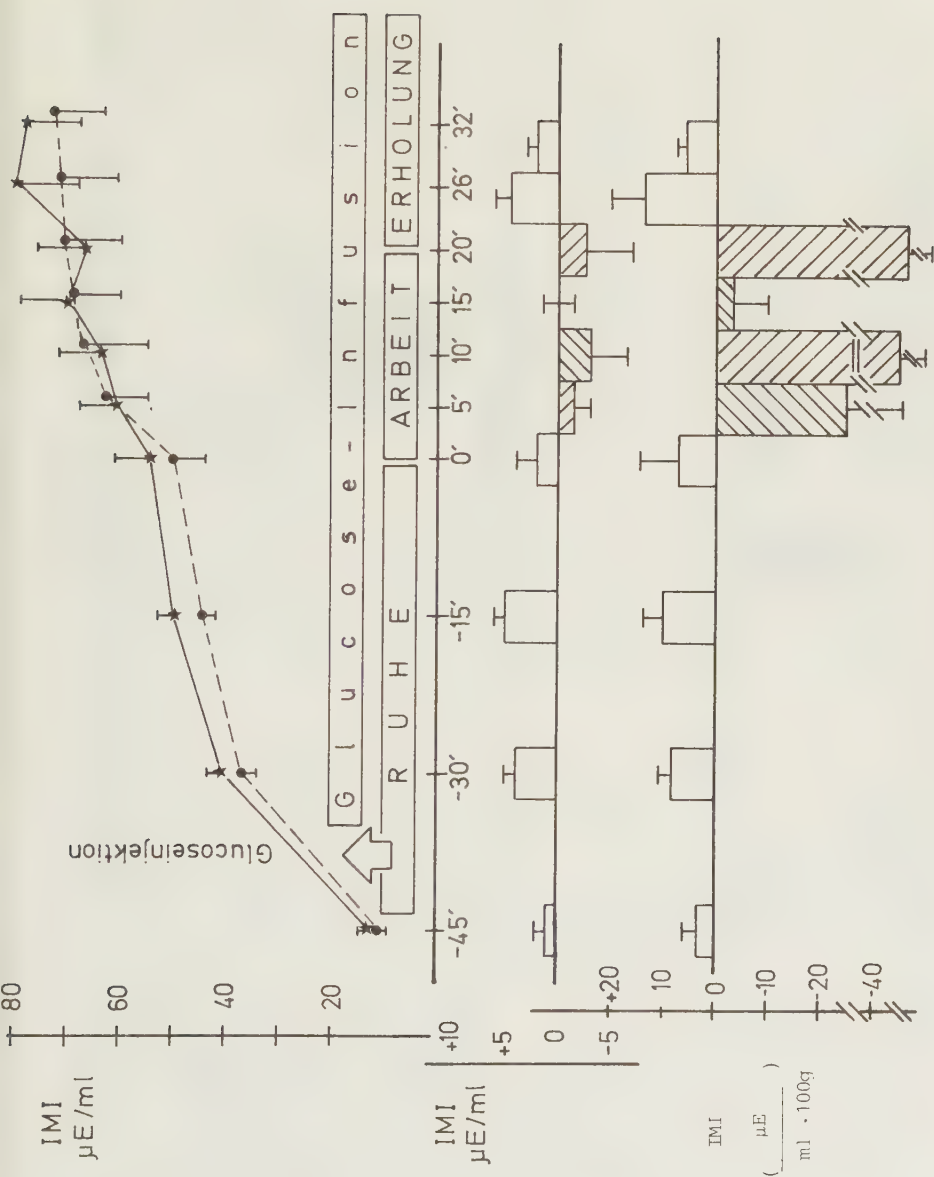


Abb. 8 Kollektiv S a. arterielle (—) und venöse (---) Spiegel
 b. arteriovenöse Differenz
 c. Umsatz
 $\bar{X} \pm \text{S.E.M.}$

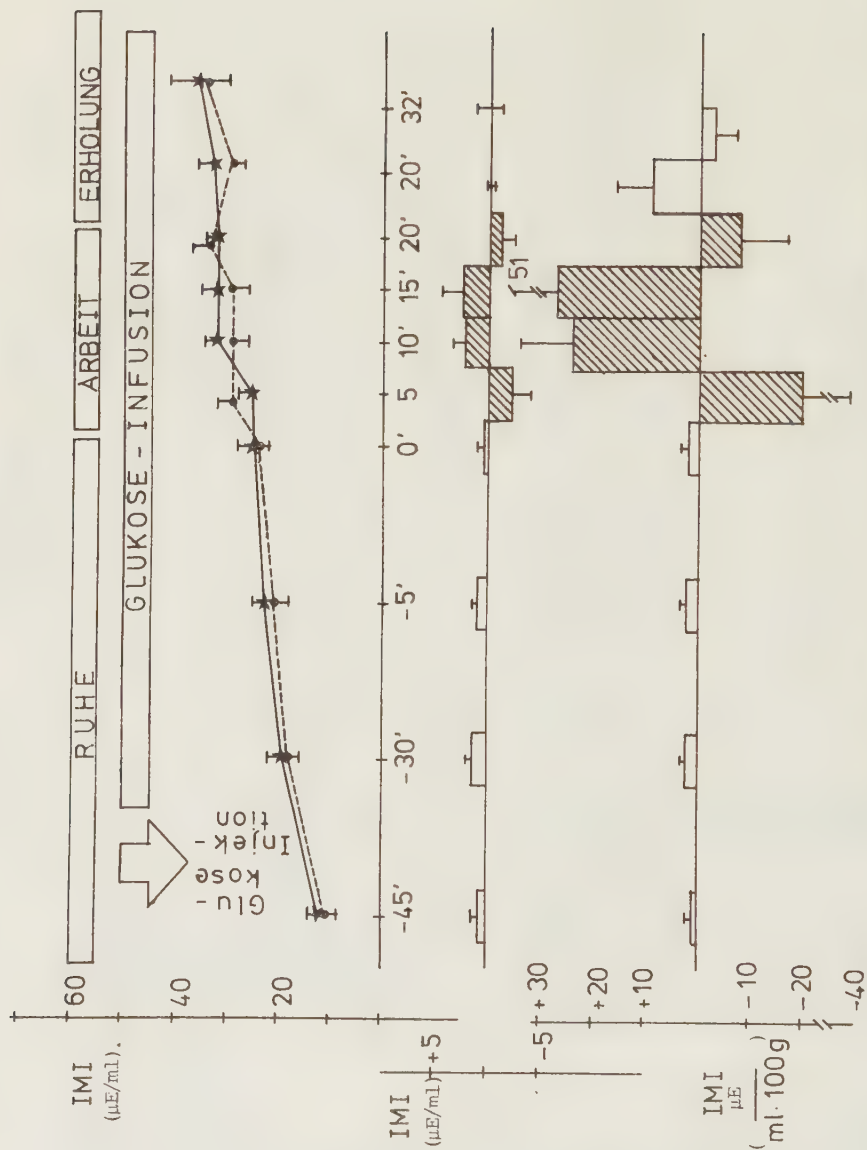
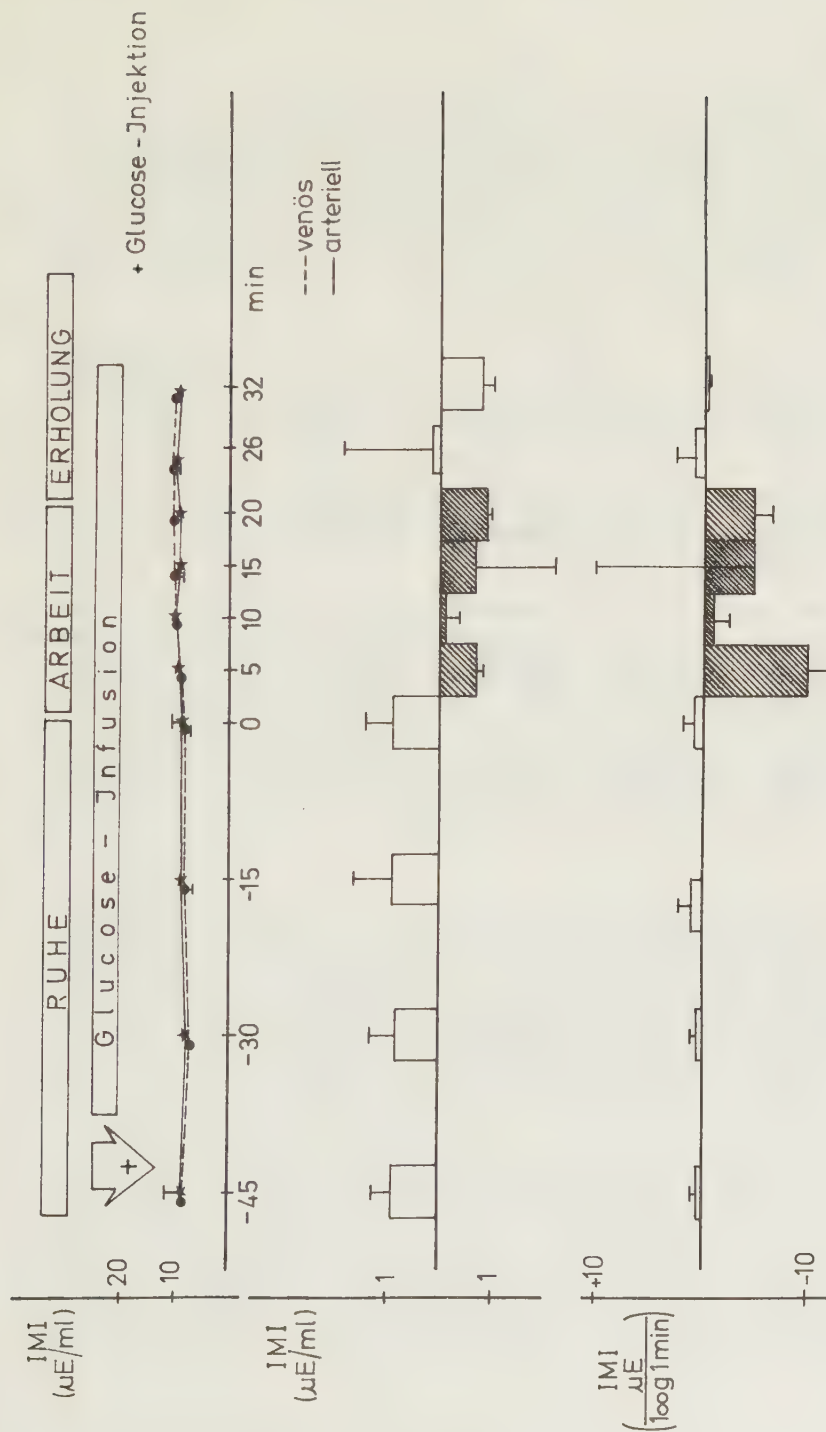


Abb 9 Kollektiv T
 $\bar{x} \pm \text{S.E.M.}$
 a. Arterielle (—) und venöse (----) Spiegel
 b. Arteriovenöse Differenz
 c. Umsatz



+ Glucose - Infusion

--- venös
— arteriell

a. Arterielle und venöse Spiegel
b. Arteriovenöse Differenz
c. Umsatz

Abb.10: Kollektiv U ($U_1 - U_2$)

$\bar{x} \pm S.E.M.$

Berechnung der Sekretionskurven - Integrale

- e. Wie andere Autoren (ZILKER 1976, BABORKA 1976) hielten wir es für wichtig, bei unseren Stimulationstesten die Flächenintegrale unter den Insulinsekretionskurven miteinander zu vergleichen. Sie geben im Gegensatz zur Betrachtung der momentanen Spiegel ein Bild der wirklich sezernierten Mengen und haben die Einheit μE mal Minuten.

Es zeigten sich individuell erhebliche Unterschiede: Während der von uns untersuchten 77 Minuten fand sich ein maximales Flächenintegral von über 4000 (S1), minimal eine negative Fläche, d.h. unter der Basalwertlinie liegend, von -58.

Als starke Insulinproduktion definierten wir eine Ausschüttung über 1500, die beiden Probanden mit unzureichender Insulinproduktion blieben unter 20.

Zwar konnte man keine einheitliche Insulinausschüttung diabetischer Probanden beobachten, da zwei Diabetiker eine starke Insulinproduktion über 1500 zeigten (S2, S3), doch sind im Mittel die Integrale der arteriellen und venösen Insulinausschüttung über 77 Minuten aller Diabetiker zusammen signifikant niedriger als die Stoffwechselgesunder ($p = 0,025$ und $0,035$). Trotzdem kann man im Einzelfall nicht aus dem Insulinflächenintegral auf einen Diabetiker schließen.

Besonders interessierten uns auch bei dieser Untersuchungsreihe die Differenz der arteriellen und venösen Flächenintegrale. Der stoffwechselgesunde Organismus ($n=6$) zeigte während Arbeit gegenüber der Ruhe hochsignifikant ($p=0,005$) verschiedene Flächenintegraldifferenzen. Sie erniedrigten sich oder wurden negativ. Auch nach der Arbeit blieben diese a-v-Differenzen gegenüber der Ruhe sicher erniedrigt.

Diesen entscheidenden Unterschied Ruhe-Arbeit bzw. Ruhe-Erholung kennt der diabetische Stoffwechsel nicht. Es scheint als ob der Diabetiker im Gegensatz zur streng geregelten Insulin-An- und -Ablagerung, wahllos ohne Berücksichtigung des Funktionszustandes des Muskels Insulin verlagert.

Auch bei Einteilung der Probanden nach der Insulinsekretions-

Tabelle 26

Insulin - mittleres Flächenintegral der Sekretionskurve über dem Basalwert + S.D. ($\mu\text{E} \cdot \text{min}$)

Gruppe	Phase	arteriell	venös	a - v
S	gesamt	2877 + 927	2732 + 1092	
T	gesamt	1007 + 308	1057 + 285	
U	gesamt	- 25 + 87	13.5 + 37	
davon K	n = 10	2515 + 1274	2462 + 1373	
D	n = 6	1205 + 1065	1178 + 945	
S	Ruhe	1247 + 242	1106 + 254	+ 142 + 71
T	Ruhe	381 + 135	425 + 166	- 44 + 165
U	Ruhe	- 23 + 50	- 23 + 28	0 + 23
davon K	Ruhe	1029 + 463	936 + 428	+ 92 + 64
D	Ruhe	518 + 502	505 + 428	+ 14 + 175
S	Arbeit	929 + 429	961 + 527	- 32 + 131
T	Arbeit	366 + 115	369 + 105	- 3 + 60
U	Arbeit	- 4 + 23	20 + 18	- 17 + 4
davon K	Arbeit	839 + 484	893 + 598	- 54 + 130
D	Arbeit	402 + 357	399 + 330	+ 5 + 68
S	Erholung	701 + 346	665 + 384	+ 36 + 91
T	Erholung	260 + 112	264 + 86	- 5 + 36
U	Erholung	+ 2 + 15	16 + 7	- 15 + 22
davon K	Erholung	647 + 400	634 + 421	- 3 + 51
D	Erholung	285 + 255	274 + 229	+ 11 + 55

stärke sehen wir diesen sicheren Unterschied Ruhe-Arbeit nur beim Kollektiv S (starke Antwort). Durch kleine und zum Teil negative a-v-Differenzen schon in Ruhe unterschieden sich die Probanden der Gruppe T nicht in Ruhe und Arbeit.

Die Tab. 27 vergleicht die Ergebnisse aller untersuchten Kollektive. Übersichtsmäßig wird der mittlere IMI-Umsatz in den vier verschiedenen Phasen in Prozent der arteriellen Konzentration gezeigt.

Aus Tab. 28 ersieht man den absoluten IMI-Umsatz der gesamten arbeitenden Unterarmmuskulatur und extrapoliert auf eine Stunde.

TABELLE 27

Immunoreaktives Insulin:

Mittlere prozentuale Extraktion aus dem arteriellen, bzw.

mittlere prozentuale Abgabe an das arterielle Blut

(errechnet nach der Formel: $\frac{a - v}{a} \cdot 100\%$)

Kollektiv	RUHE	ARBEIT	ERHOLUNG
K	8%	- 3%	5%
A	4%	- 5%	- 2%
B	7%	- 2%	6%
C	8%	- 3%	1%
D	6%	- 3%	3%
N	9%	- 9%	- 2%

Kollektiv	RUHE Grundumsatzbe- dingung	RUHE i.v.-glukose- stimulierte IMI-Spiegel	ARBEIT und i.v.-Glukose- infusion	ERHOLUNG
S	8%	10% 10% 4%	-3% -4% +0% -4%	5% 3%
T	7%	6% 4% 2%	-8% +8% +8% -4%	0% 0%
U	9%	10% 10% 10%	-8% -1% -7% -10%	1% -10%

TABELLE 28

Absolute IMI-Speicherung bzw. -Abgabe in der Peripherie in mE bezogen auf die gesamte untersuchte arbeitende Muskelmasse von geschätzt 500g und extrapoliert auf 1 Stunde errechnet nach der Formel $(a-v) \cdot MBF \cdot 5 \cdot 60$.

Kollektiv	RUHE	RUHE i.v.-Glukose- stimulierte IMI-Spiegel	ARBEIT	ERHOLUNG
K	0,450 mE/h		- 1,920	0,570
A	0,120		- 2,520	- 0,170
B	0,480		- 0,720	0,170
C	0,510		- 1,110	- 0,234
N	0,450		- 2,220	- 0,100
S	1,000	2,400 3,000 2,200	- 8,000	1,44
T	0,180	0,660 0,540 0,210	+ 4,000	0,92
U	0,400	0,300 0,570 0,510	- 1,635	0,11

D i s k u s s i o n

Die arteriellen Insulinspiegel unserer gesunden Probanden lagen unter Grundumsatzbedingungen nach halbtägigem Fasten vormittags, wie bei anderen Autoren, zwischen 10 und 20 $\mu\text{E/ml}$.

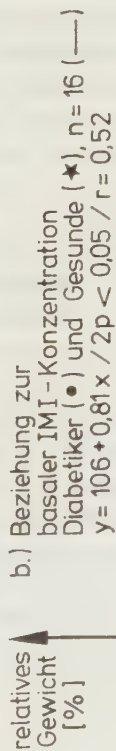
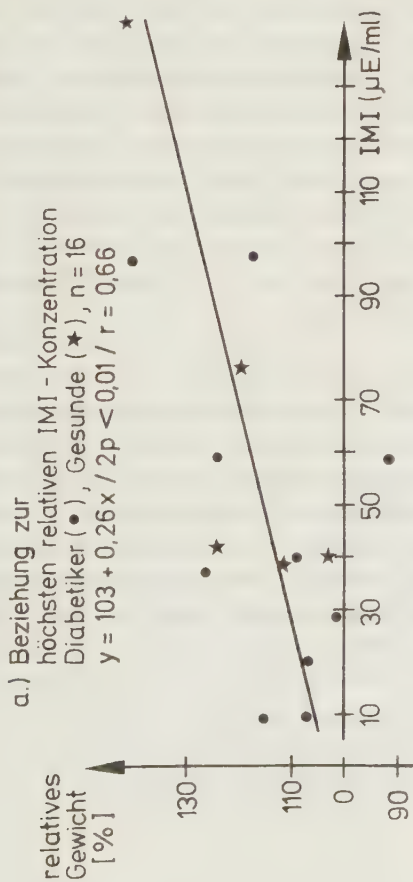
Bei unseren Untersuchungen vor und nach Glukosestimulation ergab sich eine signifikante Abhängigkeit zwischen prozentualem Gewicht (errechnet nach BROCA) und der Höhe der basalen Insulinspiegel, wie in Abb. 11c zu sehen ist. Diese Beziehung bestand auch zwischen dem relativen Gewicht und den durch Glukose stimulierten Insulinkonzentrationen (vgl. Abb. 11a). Noch deutlicher wird die Korrelation des Gewichts zum Gesamtintegral unter der Insulinkurve des Probanden (Abb. 11b).

Dieser beschriebene Zusammenhang ist aus der Literatur bekannt, nachdem er von KARAM 1963 erstmals an zehn fettsüchtigen Nicht-Diabetikern nach oraler Glukosebelastung beschrieben worden ist. Weitere Literaturübersicht bei STEPHAN 1972 und OLEFSKY 1976. Unser Kollektiv der Stoffwechselgesunden unter Grundumsatzbedingungen zeigte diesen Zusammenhang nicht, wahrscheinlich war die Zahl der Probanden zu gering. Andererseits konnte auch STEPHAN 1972 bei 79 Probanden keine Korrelation zwischen nüchtern-IMI und Übergewicht finden.

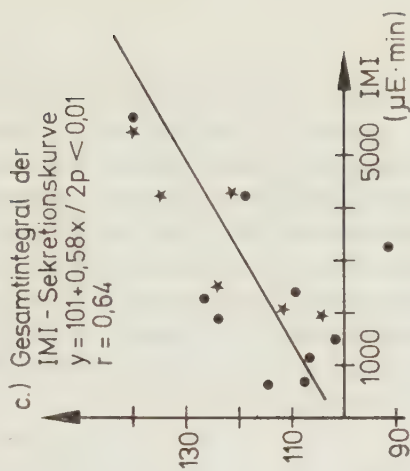
Für unsere Diabetiker separat betrachtet bestand trotz der kleinen Zahl eine signifikante Abhängigkeit zwischen Insulin-Basalspiegel und Übergewicht.

Das überwiegend aus Diabetikern bestehende Kollektiv der adipösen Patienten hatte ein relatives Gewicht von 162 %. Folglich müßte man einen Hyperinsulinismus erwarten. Da die Patienten jedoch seit ungefähr zwei Wochen unter Nulldiät standen, zeigten diese Adipösen die niedrigsten arteriellen IMI-Spiegel aller untersuchten Kollektive. Es ist seit BAGDADE und PORTE 1967 bekannt, daß erhöhte Basal-Insulinspiegel sich durch Reduktion der Adipositas senken lassen.

Abb. 11: Beziehung zwischen Körpergewicht der Probanden S,T und U und ihrer arteriellen IMI - Konzentration



nur Diabetiker (---)
 $\bar{y} = 101 + 0,83x / 2p < 0,05 / r = 0,68$
 nur Gesunde, nicht signifikant



Neben der Gewichtsreduktion scheint auch ein guter Trainingszustand die Insulin-Nüchtern-Spiegel zu beeinflussen. So fand BJÖRNTORP 1972 bei guttrainierten Männern mit wenig Fettgewebe niedrigere IMI-Spiegel nach Glukosebelastung. SZANTO beschrieb 1975 signifikant niedrigere IMI-Konzentrationen bei älteren Männern, die sich regelmäßig stärkerer Belastung aussetzten. Inwieweit die Insulinspiegel unserer Probanden durch diesen Trainingseffekt beeinflusst werden können wir nicht sagen, da uns objektive Kriterien zur Beurteilung des Trainingszustandes fehlen.

Diese verschiedenen, die absoluten Insulinspiegel erniedrigenden oder erhöhenden Faktoren erklären, warum es nicht möglich ist allein aus den Insulin-Serum-Konzentrationen diagnostische Aussagen zu machen. Deshalb wurde versucht, mit der Relation Insulin/Glukose diagnostische Fortschritte zu machen. Allerdings wurde von HAMMARSTEN, BJÖRNTORP und SCHERSTEN 1977 gezeigt, daß eine niedrige Insulin-Glukose-Ratio bei Patienten mit arterieller Verschußkrankheit nicht zwingend eine hohe Insulinempfindlichkeit bedeutet. Die Autoren verweisen indessen auf eine mögliche Bedeutung einer peripheren Insulinspeicherung.

Wir sahen, daß die venösen basalen Insulinspiegel fast regelmäßig -jedoch nicht signifikant- unter den arteriellen lagen. Da beim ruhenden Organismus auch nach Stimulation durch Glukose die arteriellen und venösen Konzentrationen streng parallel verliefen, kann man - fehlt die Möglichkeit, arterielles Blut zu bestimmen - auch gewisse Schlüsse auf die Pankreas-Sekretion aus dem venösen Blut machen. Voraussetzung dafür ist jedoch absolute Ruhe des untersuchten Probanden, da sich die Insulinspiegel unter körperlicher Aktivität verändern, wie wir es im folgenden schildern wollen.

Das periphere Verhalten des Insulins bei Arbeit

Bei den verschiedenen von uns untersuchten Gruppen fielen die arteriellen IMI-Konzentrationen mit unterschiedlicher Deutlichkeit bei Arbeit ab. Bei Stoffwechselgesunden betrug diese Verringerung im Mittel 15 %. Bei den adipösen Personen während Nulldiät ließ sich dieser Abfall statistisch sichern ($p < 0,025$). Keinen Abfall konnten wir bei Arbeit während einer kontinuierlichen Glukoseinfusion sehen, was sich mit der heutigen Theorie der hormonellen Abläufe während Arbeit erklären läßt, die wir im folgenden schildern.

Diskutierte man vor der RIA-Ära die Hypothese, für den gesteigerten Glukose-Membran-Transport während Muskelarbeit wären erhöhte Serum-Insulinspiegel nötig, so ist nun von vielen Autoren ein Abfall der arteriellen IMI-Konzentrationen durch Muskelarbeit dokumentiert (COCHRAN 1966, NIKKILÄ 1967, HUNTER 1968, REINHEIMER 1968, PRUETT 1970, JOHNSON 1974, RENNIE 1974, RENNIE 1976, Diskussion bei DIETERLE in JAHNKE et al. 1977). Weiter ist bekannt, daß der Abfall des arteriellen Insulins proportional zur Arbeitsintensität ist. Die enge Korrelation zwischen Glukose und Insulinverhalten wird durch maximale Arbeit aufgehoben (PRUETT 1970).

Kausal erklärbar wäre diese verminderte arterielle Konzentration entweder durch eine verringerte pankreatische Sekretion oder durch einen vermehrten Insulinabbau. Die verringerte pankreatische Sekretion wurde nachgewiesen und über eine alpha-adrenerge katecholaminvermittelte Hemmung erklärt (pankreatische Hemmung durch Adrenalin COORE und RANDLE 1964, durch Nor-Adrenalin PORTE und WILLIAMS 1966, durch Dopamin FELDMAN et al. 1971). Inzwischen ist dieser Mechanismus auch am Menschen nachgewiesen. GALBO (1977) blockierte mit Phentolamin die alpha-Rezeptoren beim Menschen in Ruhe und während körperlicher Anstrengung. Die durch die Arbeit bedingte Insulinerniedrigung konnte durch Blockierung der alpha-Rezeptoren abgeschwächt werden. Dabei stieg das Nor-Adrenalin auf das Dreifache, der Glukagonspiegel

änderte sich nicht.

Über den Insulinabbau während Arbeit weiß man heute, daß - aufgrund der gedrosselten Durchblutung der insulinase-haltigen Organe - weniger Insulin während Muskelarbeit abgebaut wird (Literaturzusammenstellung bei DIETERLE in JAHNKE 1977). Dieser Effekt allein ließe den Insulinspiegel steigen. Die pankreatische Sekretion wird jedoch so stark gedrosselt, daß dieser Effekt überkompensiert wird und somit der arterielle Insulinspiegel abfällt.

An dieser Stelle sei erwähnt, daß im Gegensatz zum alpha-adrenerg vermittelten Seruminsulin-Abfall bei Arbeit, die Veränderungen des Insulins und Glucagons während Fastens anscheinend von sympathischer Kontrolle völlig unabhängig sind (LANDSBERG 1977).

Die periphere Insulinfixierung (vgl. Tab. 27 und 29)

Bei unseren Basaluntersuchungen fanden wir bei Nicht-Diabetikern, daß unter Grundumsatzbedingungen etwa 8 % des arteriellen Insulinangebots nicht mehr im venösen Schenkel erscheint. Dieses Ergebnis konnten wir auch bei unserem zweiten Programm bestätigen: bei Probanden mit guter, schwacher oder keiner Insulin-Sekretion auf Glukosegabe fanden wir unter Grundumsatzbedingungen einen 8-prozentigen peripheren Insulinverlust.

In einer frühen Untersuchung unserer Arbeitsgruppe (DIETERLE et al. 1973) wurde unter gleichen Verhältnissen in Ruhe eine Insulin-Extraktion am peripheren Gewebe in der gleichen Höhe veröffentlicht (9 % des arteriellen Spiegels, vgl. Tabelle 29).

Unter glukose-provozierten erhöhten Insulinspiegeln wiesen wir eine Absorption aus dem arteriellen Angebot am ruhenden Muskel bis zum Fünffachen des Basalwertes nach. Die relative Aufnahme blieb dagegen bei ungefähr 10 % des arteriellen Insulins konstant.

Auch bei DIETERLE 1973 war die Insulinabsorption bei körperlicher Ruhe unter Glukosegabe mit 11 % des arteriellen Angebots in der gleichen Höhe.

Sowohl DIETERLE 1973 wie wir sahen eine Art Erschöpfung der Speicherfunktion je länger sie verfolgt wurde: bei uns erschöpfte sich die Einbehaltung von anfänglich 10 % des arteriellen Angebots auf 4 % nach 45 Minuten. Bei DIETERLE verringerte sich die periphere Insulinfixierung von 14 auf 8 %. Da in der gleichen Arbeit auch unter Grundumsatzbedingungen die Insulinextraktionen zwischen 5 und 16 % schwankten, könnte es sich um physiologische Schwankungen und nicht um eine Erschöpfungsfunktion handeln.

Am ruhenden Bein des Menschen wurde eine deutlich höhere periphere Insulinfixierung beschrieben (während körperlicher Ruhe 24 % des arteriellen Angebots, RENNIE 1976, Abb. 29).

Daraus kann man nicht folgern, daß die Speicherkapazitäten am Bein größer sind. Einerseits untersuchte RENNIE eine größere Muskelmasse als wir, so ist andererseits ein Unterschied in der Gewebszusammensetzung zwischen Arm und Bein bekannt. Das von RENNIE untersuchte venöse Blut hat am Bein wesentlich mehr Fettgewebe durchflossen und war somit auch vermehrt extrahiert worden. Da RENNIE nur einen Ruhewert untersucht hat, konnten wir keinen Verlauf bezüglich einer etwaigen Erschöpfung der Speicher ableiten.

Nicht ohne weiteres kann man die Ergebnisse von WAHLQUIST und CARLSON mit unseren vergleichen, weil das von ihnen untersuchte Herz kontinuierlich arbeitet (1972, 1976); allerdings gelang es, das myokardiale Insulinspiel mit dem Fettstoffwechsel zu korrelieren. Was ist über die periphere Insulinfixierung bisher bekannt? Schon 1949 zeigten STADIE et al. an Diaphragmen von Ratten, daß mit $^{131}\text{-J}$ markiertes Insulin in beachtenswerter Menge an Muskelpräparaten gebunden werden kann. Jedoch stellte sich heraus, daß das Insulinmolekül rasch nach dem Gewebekontakt denaturiert wurde. Die Möglichkeit einer konstanten Insulinfixierung ans Gewebe ist seit KRAHL 1961 für in-vitro-Untersuchungen bekannt. Der in-vivo-Nachweis gelang am Zwerchfell- und Nebenhodenfettgewebe von Ratten RAFAELSON et al. 1965. 1969 bewies RASIO, daß markiertes Insulin auch am Muskelgewebe des Hundes gespeichert und wieder freigesetzt werden kann. Diese periphere Freigabe des Hormons konnte durch Zugabe von nicht-markiertem Insulin oder Glukose-Infusion (RASIO 1970) provoziert werden.

Der gleichen Arbeitsgruppe (RASIO, WICHELOW und BUTTERFIELD 1972) gelang der Nachweis der peripheren Insulinfixierung am Muskelgewebe des Menschen: 9 normalgewichtige Personen hatten unter Basalbedingungen bei arteriellen IMI-Konzentrationen von $9\text{ }\mu\text{E/ml}$ eine mittlere Insulinfixation von $11\text{ }\mu\text{E}/100\text{g}\cdot\text{min}$. Durch eine intra-arterielle Infusion von $25 - 100\text{mE}$ Insulin steigerte sich die mittlere Insulinfixation signifikant auf $54\text{ }\mu\text{E}/\text{min}\cdot 100\text{g}$. In einer darauffolgenden Phase ohne exogene

Tabelle 29

Zusammenstellung der aus der Literatur bekannten lokalen, peripheren Insulinanlagerungen und -freigaben während Muskelarbeit. (Die Zahl gibt den prozentualen Anteil am arteriellen IMI an, errechnet nach der Formel $\frac{a-v}{a} \cdot 100\%$, + bedeutet periphere Speicherung, - heißt periphere Insulinfreigabe). (IMI in $\mu\text{E/ml}$) (vgl. dazu die Ergebnisse unserer Arbeit Tab.27)

Autor, Jahr	Probanden	Lokalisation	Funktionszustand	$\frac{a-v}{a} \cdot 100\%$	IMI-Konzentration [$\mu\text{E/ml}$]
DIETERLE et al. 1973	6 M	Unterarm- muskulatur während Glukosegabe	Ruhe	+11 %	75-111
			Arbeit 5'	-11 %	111
			Erholung	+ 8 %	120-131
	7 M	Unterarm- muskulatur ohne Glukosegabe	Ruhe	+ 9 %	17
			Arbeit 5'	-19 %	12
			Erholung	-14 %	
			Erholung	- 3 %	14 $\ominus$
			Erholung	+ 2 %	
WAHLQVIST et al. 1972c	12 M	Herzmuskulatur ohne Infusion	Ruhe	- 6 %	18
	6 M	Herzmuskulatur mit Nikotinat- Infusion	Ruhe	-15 %	15
	12 M	Herzmuskulatur ohne Infusion	1-2h nach Fahrradergo- meterarbeit	- 7 %	14
	9 M	Herzmuskulatur mit Nikotinat- Infusion	1-2h nach Fahrradergo- meterarbeit	-17 %	11

CARLSON, WAHLQVIST et al. 1975	12 M	Herzmuskulatur unter Infusion von Fettemulsion und Glukose	körperliche Ruhe	+ 5 %	27
	5 M	Herzmuskulatur unter Infusion von Fettemulsion und Glukose	3h/4h nach Fahrradergo- meterarbeit	+32 %	10
RENNIE et al. 1976	5 M	Beinmuskulatur	Ruhe	+24 %	15
			nach 10'Fahr- radergometer- arbeit	0 %	12
			nach 20-30' Fahrradergo- meterarbeit	-24 %	9
			nach 5' Erholung	-28 %	10
			nach 30' Erholung	0 %	11
			nach 60-70' Erholung	+16 %	19

Beeinflussung stellte sich wieder eine Fixation auf ungefähr der des basalen Niveaus ein ($14 \mu\text{E}/100\text{g}\cdot\text{min}$). Damit bewiesen WICHELOW und BUTTERFIELD auch die Abhängigkeit der peripheren Insulinfixation vom arteriellen Insulinangebot am Unterarmmodell beim Menschen. Auch die Insulinwirkung hängt bekanntermaßen von der Insulindosis ab. Da aber die Fixation des Insulins ans periphere Gewebe allein die Glukoseaufnahme nicht steigern konnte, folgerten die Autoren, daß sie keinen Effekt auf den Glukoseumsatz ausübe (RASIO 1972).

Nach Darstellung der invitro- und invivo-Ergebnisse der endokrinologisch-klinischen Forschung interessiert es, welches Korrelat auf molekularer Ebene von Seiten der biochemischen Wissenschaft zu finden ist:

Bei RAPPOPORT (1969) werden die vier Tyrosin- und zwei Histidin-Aminosäuren als für die Hormoneigenschaft essentiell bezeichnet. Nach Abspaltung des N-terminalen Phenylalanins der B-Kette, wirkt dieses Des-Phe-Insulin ebenso stark blutzuckersenkend wie das intakte Hormon, trotz geringerer Immunogenität (VALDENNAIRE et al. 1979). Dies gilt auch für das C-Ende der B-Kette (POULSEN 1973).

Weiter soll das Hexapeptid der Aminosäurenpositionen 6 bis 11 im Schwefelring der A-Kette des Moleküls der Schauplatz der Insulinbindung an Muskel- und anderem Gewebe sei (WHITNEY, zitiert in WILLIAMS 1968). Intakte Disulfidbrücken sind für die Wirkung essentiell, da ihre Reduktion, z.B. durch den H-Donator Glutathion (Glu-Cys-Cly) Insulin inaktiviert. Andererseits zeigte MIRSKY (zitiert in WILLIAMS 1968), daß in-vitro eine Insulinbindung trotz Blockierung der Schwefelgruppen möglich ist. Folglich muß es noch andere Bindungsstellen geben. Entscheidend halfen kristallographische Studien weiter. Danach kann man das Zentrum der Molekülaktivität bereits vermuten: es beinhaltet drei Kettenenden; 1. das N-terminale Ende der A-Kette (Gly), 2. das C-terminale Ende der A-Kette (Asn), 3. das N-terminale Ende der B-Kette (Thr) (HODGKIN, BLUNDELL, DOBSON, Übersicht bei HEPP 1980); (Insulinchemie aus BARRINGTON 1975).

Die C-terminalen Enden sind positiv, die N-terminalen negativ geladen. Wieviele Aminosäuren der einzelnen Ketten sich zusätzlich auf Grund anderer Bindungskräfte fixieren, ist nicht bekannt.

Natürlich könnte man das Phänomen, daß im venösen Schenkel weniger Insulin erscheint als im arteriellen, auf eine Denaturierung des Insulinmoleküls am Zielorgan zurückführen. Eine unspezifische Insulinase wurde von JACQUES 1969 am Muskelge-
wege beschrieben. In-vitro wurde nachgewiesen, daß sich nach Dissoziation des Insulinrezeptorkomplexes das freigesetzte Insulin nicht veränderte. Zur Erfüllung der biologischen Aktivität ist keine Strukturänderung des Insulinmoleküls notwendig (FREYCHET 1972). In Einklang dazu konnten wir eine periphere Freigabe des Insulins messen. Daraus möchten wir folgern, daß zumindest ein Großteil des peripher fixierten Insulins nicht denaturiert worden ist.

Wo wird das Insulin fixiert? Theoretisch kann Insulin an allen Strukturen, die sich zwischen Blutplasma und Cytosol befinden, zurückgehalten werden. Wir werden im folgenden diesen Weg von außen nach innen besprechen.

Als RASIO 1969 erstmals die Fixierung von Insulin am Muskelgewebe sah, glaubte er, sie spiele sich an den Gefäßendothelien der zahlreichen Blutkapillaren ab, die sich zwischen den feinen Gitterfasern des Endomysiums befinden.

Geht man von der Fähigkeit des Polypeptids Insulin (Molekulargewicht des Monomers 5750) aus, die Barriere der Kapillarendothelien durchdringen zu können, dann wäre eine Drainage des verschwundenen Insulins über den Lymphabfluß vorstellbar, gesetzt den Fall, es würde nicht mehr in das Gefäß zurückströmen. Tatsächlich wurde am arbeitenden Hinterbein des Hundes ein vierfacher Anstieg der NSILA (non-suppressible insulin-like activity) in der Lymphflüssigkeit gemessen (COUTURIER et al. 1970). Man weiß heute jedoch noch nicht sicher, welche Substanzen hinter dieser, mit biologischen Methoden nachgewiesenen insulinähnlichen Wirkung verborgen sind. Man brachte später die STH-regulierten Somatomedine mit NSILA in Zusammenhang (MARSHALL 1974) Übersicht bei HARPER et al. 1975, CHOCHINON et al. 1976).

Als nächster Schritt könnte sich Insulin an der Muskelzellmembran selbst fixieren, gäbe es dort spezielle Membranprotein-komplexe, die als Rezeptoren fungieren können, wie es im Modell von SINGER-NICOLSON 1972 angeregt wurde. Als erster isolierte CUATRECASAS Insulinrezeptoren aus Fettzellmembranen (1971), später auch aus Lebergewebe (1972). Er beschrieb ein asymmetrisches, stabförmiges Protein mit hohem Molekulargewicht um 300 000. Am Muskelgewebe konnte RENNER einen Insulinrezeptor 1973 nachweisen.

Während man über die Struktur des Insulinrezeptors schon recht gut informiert ist, herrscht noch Unklarheit über dessen Funktion, ganz im Gegensatz zu den Rezeptorsystemen anderer Hormone. Die Glukosebindung an der Fettzellmembran wird heute einer eigenen Struktur zugeschrieben, also einer, die mit dem Insulinrezeptor nicht identisch ist. So kann durch Neuraminidase die insulinvermittelte Glukoseaufnahme der Zelle zusammenbrechen, ohne daß die Bindungsfähigkeit der Membran für Insulin verändert wird. An der Kopplung der beiden Membransysteme scheinen Sialinsäurereste beteiligt zu sein (Übersicht bei HARRISON und LUNT 1977).

Das Insulinrezeptorensystem wird zur Zeit intensiv erforscht. Die Zahl der Zellmembran-Rezeptoren für Insulin ist für die Fettzelle bereits bestimmbar und wird mit 10-30 000 angegeben (zitiert nach HEPP 1974).

Noch nicht geklärt wäre die Frage nach der Dissoziationskonstanten, der Verteilung, den qualitativen Veränderungen bei Krankheiten (besonders Diabetes mellitus) oder chronischen Plasmaveränderungen (z.B. Hypokaliämie). Es ist seit langem bekannt, daß durch Insulin Kalium in die Zelle verlagert wird, so daß eine Beziehung zwischen der Natrium-Kalium-ATPase an der Innenseite der Membran möglich scheint. Für die bekannte Insulinresistenz kann man nicht nur Antikörper gegen Insulin selbst, sondern auch den Insulinrezeptor verantwortlich machen.

Bisher wurden jedoch nur äußerst wenige derartige Fälle beschrieben (FLIER et al. 1975, BLACKARD et al. 1977)

KALANT et al. (1978) forderten eine intra-zelluläre Aufnahme von Insulin, nachdem sie bei Ruhe und Arbeit nur eine Insulinaufnahme und keine -abgabe messen konnten. Dieser Mechanismus müßte - wie die Autoren fordern - unabhängig vom Membranrezeptor sein. Prinzipiell ließe sich mit dem derzeit anerkannten "fließenden Mosaikmodell" von SINGER und NICOLSON ein Durchdringen der Membran-Lipid-Doppelschicht durch Proteine erklären. Auch wurde die Fähigkeit des Insulinmoleküls beschrieben, sich an isolierte Zellkerne zu binden (GOLDFINE et al. 1976). Jedoch weiß man von Untersuchungen an Fettzellen, daß sich Insulin stets an der Membranaußenseite bindet. An der Membraninnenseite ist eine Bindung nur nach Aufbrechen der Strukturen durch Maßnahmen, wie sie im Organismus nicht vorkommen, möglich (HARRISON und LUNT 1977).

Im Gegensatz zu KALANT et al. konnten wir bei unseren Untersuchungen messen, daß das peripher gespeicherte Insulin auch wieder freigegeben wird, was wir im folgenden besprechen werden.

Die periphere Insulinfreigabe (vgl. Tab. 27 und 29)

Bei den stoffwechselgesunden Probanden sowie bei Probanden, die auf Glukosegabe mit starker pankreatischer Insulinproduktion reagierten, fanden wir eine periphere Insulinsekretion in Höhe von 3 % des arteriellen Angebots. Vielleicht hängt die Insulinfreigabe von der Intensität der Arbeit ab, da andere Autoren eine stärkere periphere Insulin-Sekretion bei Arbeit sahen.

Nach einer 5-minütigen Arbeit am Handergometer fand DIETERLE 1972, daß 11 % des arteriellen Insulins aus dem peripheren Gewebe an das Blutplasma bei hohen Insulinspiegeln wie unter Glukosegabe, und 19 % bei Basal-Insulinspiegeln abgegeben werden. In derselben Höhe lag die Insulinfreigabe am Herzen unter Nikotinatinfusion (WAHLQUIST 1972c). An der Beinmuskulatur, die - wie oben beschrieben - in Ruhe eine größere Insulinabsorption als am Arm zeigte, konnten RENNIE et al. 1976 auch eine größere Insulinfreigabe durch Arbeit am Fahrradergometer messen (24 % des arteriellen Insulins).

Die Freisetzung am Herzmuskel (WAHLQUIST 1972c) fand bei Ruhe und bei am Fahrrad arbeitenden Probanden statt und konnte durch Nikotinatinfusion sowohl in Ruhe wie bei Arbeit gesteigert werden. Andererseits wurde von der gleichen Arbeitsgruppe (CARLSON et al. 1975) unter Infusionen von Fettemulsion und Glukose sowohl in Ruhe als auch bei Arbeit am Fahrradergometer eine Speicherung von Insulin beschrieben. Nach einer 3 bis 4-stündigen Ergometer-Belastung konnten die schwedischen Autoren sogar eine Insulinspeicherung auf ein Vielfaches des Ruhewertes messen und, nachdem sie keine Insulinfreisetzung massen, sprachen sie die Möglichkeit eines Insulinabbaus am Herzen an.

Während diese Befunde am Herzen recht uneinheitliche Interpretationen ergaben, fanden die den Skelettmuskel untersuchenden Autoren gerade bei Arbeit die Freisetzung des Insulins.

Als Erklärung für die periphere Insulinfreigabe können wir prinzipiell die gleichen Möglichkeiten heranziehen, die schon die periphere Insulinspeicherung beleuchteten: Freisetzung vom Gefäßendothel, Rückdiffusion aus der interstitiellen Flüssigkeit, Freigabe vom extramembranösen Rezeptor, Verschiebung von Insulin von intra- nach extrazellulär.

Für die wahrscheinlichsten Modelle - der Gefäßendothel - und der Rezeptorbindung - sprächen die von WAHLQUIST 1972 vermuteten Abläufe: durch Arbeit sinken die arteriellen Insulinkonzentrationen wie oben geschildert; um die geringeren Plasmakonzentrationen zu kompensieren, wird peripher gespeichertes Insulin nach dem Massenwirkungsgesetz freigesetzt. Von DIETERLE (1975) stammt folgender Einwand: 1. Hormone wirken nur über eine Bindung an Rezeptoren; 2. Da wir eine Freisetzung von Insulin beobachteten, ist deshalb 3. das einfache Rezeptormodell für Insulin am arbeitenden Muskel nicht anzuwenden. Man könnte beide Modelle verquicken: Insulin wird am Gefäßendothel bei Ruhe gespeichert (RASIO 1969), bei Arbeit nach dem Massenwirkungsgesetz wegen der sinkenden Spiegel freigesetzt, um dann für die Rezeptorbindung zur Verfügung zu stehen. Nicht gebundenes Insulin erscheint als erhöhte Konzentration des venösen Blutes.

Nun könnte man annehmen, peripher freigesetztes Insulin sei bedeutungslos. Dies konnte experimentell widerlegt werden. Physiologische Insulinmengen üben einen stimulierenden Effekt auf die Glukoseaufnahme der arbeitenden, jedoch nicht der ruhenden Muskulatur aus. (WICKLMAYR et al. 1979).

Teleologisch scheint der lokale Insulin-Release sinnvoll, da nicht alle Muskeln gleichzeitig arbeiten. Durch ihn erhält der arbeitende Muskel mehr Insulin, während der zur selben Zeit ruhende Muskel durch die Abnahme des arteriellen Insulinspiegels einen verminderten Glukose-Membran-Transport hinnehmen muß. Zusätzlich wäre es erforderlich, daß der arbeitende Muskel über einen nicht näher bekannten Faktor die Freisetzung des Insulins initiiert. Andererseits wäre es nicht sinnvoll, würde das peripher am arbeitenden Muskelgewebe freigesetzte Insulin die Glykogensynthese fördern. Unterschiedliche Mechanismen müssen

die verschiedenen Insulinbotschaften ins Zellinnere übertragen. Tatsächlich kennt man heute schon zwei Systeme, die eine Insulinmeldung weiterleiten können: einerseits die Adenyl-Cyclase-Hemmung, also die Unterbrechung der Botschaft einer Reihe kataboler Hormone, andererseits die Guanyl-Cyclase-Aktivierung (Übersicht bei HARRISON und LUNT 1977). Nach CUATRECASAS kann dieser duale Effekt sogar von einem einzigen Insulinrezeptor ausgehen.

Ein Anstieg der venösen Insulinkonzentrationen könnte von einer Spaltung des zirkulierenden Proinsulins in der Peripherie herühren (STEINER 1970). Mit dem Radioimmunoassay werden jedoch Insulin und Proinsulin gemeinsam erfaßt. Darüberhinaus wurden die zur Proinsulinspaltung nötigen Enzyme am Muskel bisher nicht nachgewiesen (intrazelluläre Protease).

Insulin könnte sich der Bestimmung durch den Radioimmunoassay entziehen, wenn es an Blutzellen gebunden und so bei der Zentrifugation mit den Erythrozyten verloren gehen würde. RASIO diskutierte die Möglichkeit bei der Entdeckung der Insulinfreigabe 1969. Eine Bindung von Insulin an Erythrozyten ist zwar vom Truthahn bekannt, beim Menschen gelang der Nachweis nicht (GINSBERG 1976). Wenn eine Bindung an Blutzellen möglich wäre - wie es von menschlichen Leukozyten beschrieben wurde (BECK 1976) - könnte sie die arterio-venösen Insulindifferenzen nicht erklären, da in beiden Fällen Insulin in gleichem Maße sich der Bestimmung entziehen würde.

Während die Insulinfreisetzung bei den Basaluntersuchungen durch das Massenwirkungsgesetz erklärt werden kann, gelingt es nicht für die Untersuchungsserie unter Glukoseinfusion. Durch die exogene Glukosegabe wurde laufend Insulin aus dem Pankreas sezerniert. Durch die Arbeit unserer kleinen Muskelgruppe wurde keine Insulinsekretionshemmung gesehen. Die Katecholaminsekretion konnte den Glukosereiz nicht übertreffen. Trotzdem kam es durch ansteigende Insulinspiegel zu negativen arterio-venösen Differenzen. Ein Reiz, der mit der Muskelkontraktion in Zusammenhang

steht, müßte somit die Insulinfreigabe auslösen. Dahinter könnte man einen seit langem diskutierten muscular-activity-factor vermuten (GOLDSTEIN 1953), sei es ein Stoffwechselmetabolit wie das von DIETERLE 1971 diskutierte Laktat, das anfallende Kohlendioxid oder Wasser, oder 2,3-Diphosphoglycerat. Kleinen Ionen wird eine Bedeutung bei der Kopplung der Insulinwirkung mit der Muskelarbeit zugeschrieben, insbesondere dem Calcium (CLAUSEN 1977), sowie dem Chrom und Zink (zitiert nach CULLMANN et al. 1979).

Möglicherweise üben die bei der Arbeit vermehrt im Plasma erscheinenden insulin-antagonistische Hormone einen Einfluß auf die Insulinrezeptorbindung aus. So erhöhen sich STH (SCHALCH 1967, GLICK 1968), Glukagon (FELIG 1972, LUYCKX 1974), der Androgenspiegel (SUTTON 1974) und die Glukokortikoide (RENNIE 1974). Auch die Schilddrüsenhormone spielen möglicherweise eine Rolle bei Muskelarbeit; man glaubt bislang, daß sie vermehrt verbraucht werden (Übersicht bei BERCHTOLD und BERGER 1975). Um den Insulinrezeptor selbst konkurrieren die genannten Hormone nicht, dies ist nur von Somatomedin bekannt (MARSHALL et al. 1974).

Die genannten katabolen Hormone müßten über Strukturänderung der Membran indirekt eine Lösung des Insulins von seinem Rezeptor bewirken.

Nach neuesten Untersuchungen wird dem Nonapeptid Bradykinin eine wichtige, möglicherweise muskelspezifische Kontrollfunktion bei der Regulation des Kohlenhydratstoffwechsels zugeschrieben (WICKLMAYR, DIETZE 1978). Die Verbesserung der Glukoseverwertung ist nachgewiesen. Eine Erklärung über eine pankreatogene Insulinkonzentrationsänderung wurde ausgeschlossen. Ein Zusammenhang mit dem peripheren Insulin-Release scheint uns jedoch möglich. Selbstverständlich könnte es sich auch um einen Nonapeptid-Rezeptor handeln, der völlig unabhängig vom Insulinrezeptor ist.

Bekannt ist einerseits, daß, während einer Fahrradergometerbelastung, durch Kallikreingabe bei Gesunden die Sauerstoffaufnahme erhöht, sowie die Laktatabgabe erniedrigt werden kann (PHILIPI et al. 1979). Weiter verursachen Kinine eine Steigerung der peripheren Glukoseaufnahme (DIETZE et al. 1977) und reguliert den Muskelstoffwechsel während Arbeit (DIETZE et al. 1977) und Hypoxie (DIETZE et al. 1977).

Der periphere Insulinstoffwechsel während Arbeit im diabetischen Stoffwechsel

Für die pathognomonische Hyperglykämie des Diabetikers hat einerseits die gesteigerte Glukoseausschwemmung aus der Leber eine fundamentale Bedeutung (ISSEKUTZ 1975: Direkt lineare Korrelation zwischen Glukoseausstoß aus der Leber und dem Plasmaglukosespiegel; Diabetes mit erhöhter Glukoneogenese aus Aminosäuren, FELIG und WAHREN 1974).

Die gestörte Glukosehomöostase findet eine zweite Ursache in der Peripherie. Es wäre deshalb zum besseren Verständnis und eventuell zur Eröffnung neuer therapeutischer Konzeptionen wertvoll, könnte man die Abläufe bei der Glukoseeinschleusung in die Muskel-Zelle klären. Im folgenden soll deshalb versucht werden, das periphere Insulinverhalten bei Arbeit, sowohl bei Diabetikern wie bei Adipösen während totalen Fastens (überwiegend Diabetikern) zu besprechen.

Als erstes könnte ein abnormes Insulin an den peripheren Rezeptor gelangen (ROY et al. 1968). Dieses konnte bisher beim Diabetes noch nicht nachgewiesen werden (POULSEN 1973). Selbst wenn bei Diabetikern ein abnormes Insulin nachgewiesen werden würde, könnte es nicht für die Erklärung der meisten Diabetiker herangezogen werden. Bei größeren Abweichungen vom physiologischen Insulin wäre es mit dem üblichen Radioimmunoassay nicht zu bestimmen. So gehen wir bei unseren Untersuchungen von einem normal strukturierten Insulin aus.

Wir sahen bei Diabetikern unter Grundumsatzbedingungen etwas niedrigere arterielle Insulinspiegel. Der relative Insulinmangel nahm mit dem Schweregrad des Diabetes zu (BACHL 1976). Durch exogenen Glukosereiz konnte fast nur bei Gesunden der Insulinspiegel reaktiv stark ansteigen.

Es gab zwei Ausnahmefälle: Zwei Diabetiker reagierten mit einer guten pankreatischen Insulinantwort. Ein stark übergewichtiger Proband, mit einem hohen basalen IMI-Spiegel, der wahrscheinlich auf einen Antikörpereinfluß zurückzuführen war. Zum zweiten

ein seit zwölf Jahren erkrankter Diabetiker, nicht insulinpflichtig und fast idealgewichtig. In diesem Fall können Antikörper ausgeschlossen werden. Inzwischen ist von vielen Autoren berichtet worden, daß es Diabetiker mit guter pankreatischer Insulinsekretion gibt (ZILKER et al. 1976). Als Erklärung für den Hyperinsulinismus kann ein relativer Anstieg des Proinsulins am Gesamt-IRI nur bei insulinbedürftigen Diabetikern herangezogen werden (HEDING 1977). Eine familiäre Hypoproinsulinämie ist äußerst selten (GABBAY et al. 1976). Man prägte deshalb den Begriff der erhöhten peripheren Insulinresistenz. Darunter versteht man eine vorübergehende oder dauernde Verringerung der Empfindlichkeit auf endogenes oder exogenes Insulin. Zur Beurteilung der Insulinempfindlichkeit wurde bisher der Insulin/Glukose-Quotient herangezogen (SELTZER et al. 1964). Von HAMMARSTEN et al. (1977) kamen Arbeiten, die die Aussagekraft dieses Quotienten stark abschwächten. Sie untersuchten Glukosetoleranz und Plasmainsulin bei 49 nichtdiabetischen Patienten mit peripherer arterieller Verschußkrankheit des Beines vor erfolgreicher arterieller Rekonstruktion und 6 Monate nach der Operation. Die periphere Insulinaufnahme war mit 21 % bei Patienten mit arterieller Verschußkrankheit signifikant höher, als bei Kontrollen (7 %). Das gleiche galt für die Glukoseaufnahme (8 % statt 3 %). Dies zeigte an, daß die relative Insulinentnahme des Beines höher lag, als die von Glukose. Daraus würde sich arteriell und venös ein unterschiedlicher Insulin/Glukose-Quotient errechnen. Die Autoren schlossen aus der niedrigen Insulin-Glukose-Ratio der Patienten mit arterieller Insuffizienz nicht zwingend auf eine hohe Insulinempfindlichkeit. Dafür schrieben sie der erhöhten Insulinaufnahme in der Peripherie eine Bedeutung für die Insulinwirkung zu.

Beim diabetischen Stoffwechsel kommt es zwar im Einzelfall auch zu einer peripheren Insulinspeicherung. Unterscheidet sich beim Gesunden die Arbeit von der Ruhe signifikant gerade durch die Insulinfreigabe, so fehlt dieses Verhalten dem arbeitenden Muskelgewebe des Diabetikers.

Dies zeigte sich unter Grundumsatzbedingungen wie auch bei der Berechnung der Integrale der Insulinausschüttung nach exogener Glukosegabe, die den natürlicheren Zuckerspiegeln näher kommen sollten.

Die erstaunliche Ausnahme, daß bereits behandelte Diabetiker den gesunden Stoffwechsel noch am besten nachahmen konnten, kann folgendermaßen erklärt werden. Erstens könnten Restmengen der Therapie auch nach 48-stündiger Behandlungsunterbrechung den "genuinen Diabetesschaden" in der Peripherie rückgängig machen. Zweitens könnte die fehlende Antwort auf die Insulinablagerung am Muskelgewebe auf einen Schaden hinter den Insulinbindungsstellen lokalisiert sein. Man spricht heute in diesem Sinne von einer metabolischen Resistenz (HEPP 1980). Auch die Probanden, die eine Nulldiät durchführten und überwiegend sehr adipöse Diabetiker waren, zeigten trotzdem das signifikante periphere Insulinspiel, wie wir es vom Stoffwechselgesunden her kannten. Als Erklärung bietet sich an, daß im Hungerzustand eine vorher bestehende Insulinrezeptorenabnahme wieder rückgängig gemacht werden kann.

Die nicht beantwortete Frage lautet: was kann man über das fehlende periphere Insulinspiel der unbehandelten und subklinischen Diabetiker sagen. Unsere Befunde sind mit dem alten Postulat, die gestörte diabetische Glukosehomöostase sei primär nicht auf eine pankreatische, sondern auf eine periphere Störung zurückzuführen, in Einklang zu bringen (RANDLE et al. 1963, BUTTERFIELD et al. 1965).

Nehmen wir also an beim Diabetiker vom Erwachsenentyp gibt es eine Störung am Zielorgan, also am Gefäßendothelrezeptorsystem.

Als erstes könnte das Gefäßendothel des Diabetikers geschädigt sein, das den bekannten Formen der diabetischen Mikro- wie der gesicherten, verfrühten Makroangiopathie entspräche. Eine Insulinadhäsion am geschädigten Endothel bietet sich als Erklärung für die geringer positiven Werte der Ruhearteriovenösen Differenzen an. Eine weitere Erklärungsmöglichkeit für

die fehlende periphere Insulinspeicherung des Diabetikers ergibt sich aus der Kenntnis der mikrorheologischen Eigenschaften des Diabetikerblutes. Schon zu Krankheitsbeginn bewirkt die alterierte Blutphysiologie verstärkte Plasmaviskosität und erhöhte Erythrozytenaggregabilität (VOLGER et al. 1976). Die Erythrozyten könnten sich nicht verformen, könnten verklumpen, die Kapillaren regelrecht verstopfen. Das zirkulierende Insulin würde viele Kapillaren gar nicht erreichen. Tatsächlich maßen wir bei den signifikant älteren Diabetikern auch eine signifikant schwächere Durchblutung. Aus der Hämostasie resultierten darüber hinaus metabolische Konsequenzen.

Gesetzt den Fall, eine Speicherfähigkeit wäre von pathologischen Endorganrezeptoren beeinflusst (KAHN 1979), so wäre auch das eine Erklärung für die von uns beobachteten Phänomene. Eine quantitative Minderung der Rezeptorenzahl gilt heute bei Diabetikern sowie Adipösen als gesichert (HEPP 1980). Die nachgewiesene erhöhte Verletzlichkeit der Diabetikerzelle sowie ihre verkürzte Überlebenszeit in der Gewebekultur (VRACKO et al. 1974), würde zu einer Abnahme der Rezeptorenzahl führen, wenn der Verlust die Reparationsfähigkeit überstiege.

Weiter ist eine Störung der Kapillardiffusionskapazität für kleine Ionen und hydrophile Moleküle im Skelettmuskel von Langzeitdiabetikern bekannt (TRAP-JENSEN et al. 1968). Dies führen die Autoren eher auf eine Folge der Mikroangiopathie als auf die Krankheit per se zurück.

Gerade die Anwesenheit von Spurenelementen und Ionen betrachtet man heute als essentiellen Cofaktor für die Glukosemembranpassage, sowie für den Angriffsort des peripheren Insulins (GLINSMANN et al. zitiert nach CULLMANN 1979). Neben Zink wird insbesondere das dreiwertige, durch Glutathion vor Reduktion geschützte Chrom angeführt. Man könnte sich vorstellen, daß diese Spurenelemente zur Komplexbildung des Insulins am peripheren Rezeptor nötig wären.

Eine Beziehung zwischen der Natrium-Kalium-Pumpe und Membranrezeptoren ist für den Digitalisrezeptor am Herzmuskel nachgewiesen (ERDMANN). Auch für Insulin ist eine Freilegung latenter Bezirke für die Natriumpumpe am Froschmuskel beschrieben (GRINSTEN et al. 1974).

Insbesondere schrieb man dem Kalzium eine entscheidende Rolle bei der peripheren Insulinaktion zu (HOLLOSZY et al. 1965, zitiert und experimentell nachgewiesen durch CLAUSEN 1977. Über Kalzium ergibt sich eine Verbindung zu einem gestörten hormonellen Geschehen beim Diabetiker.

Eine erhöhte Kalziumüberflutung auch intrazellulär wies MARQUARDT 1979 am Herzmuskel nach, was durch einen erhöhten Katecholaminspiegel hervorgerufen wurde. Auch bei ketotischen, juvenilen Diabetikern wurden abnorm hohe Plasmakatecholspiegel in Ruhe und während Arbeit beschrieben (CHRISTENSEN 1970). Durch dieses Phänomen ließe sich der von uns bei Diabetikern gesehene fehlende Insulinabfall erklären. Durch erhöhte Ruhe-katecholaminspiegel kommen arbeitsinduzierte Katecholaminspiegeländerungen nicht zur Wirkung. Die im Mittel gesehenen erniedrigten Insulinspiegel bei Diabetikern könnte man durch eine permanente Hemmung des Pankreas über die Katecholamine erklären. So stehen in Ruhe schon nicht genügend Insulinmoleküle bereit, um peripher gespeichert zu werden, ein Abfall der Insulinspiegel durch Arbeit bleibt aus, eine Freisetzung nach dem Massenwirkungsgesetz kann nicht eintreten. Da wir jedoch Diabetiker vom Erwachsenentyp untersuchten, CHRISTENSEN jedoch juvenile Diabetiker, können wir die Katecholaminspiegel nicht von vornherein auf unser Patientengut übertragen.

So gilt es, andere insulinantagonistische Hormone auf ihre mögliche Rolle bei der Muskelarbeit zu besprechen. Am einfachsten wäre es, anzunehmen, die Insulinrezeptoren wären durch einen hormonellen Gegenspieler besetzt. Diese Möglichkeit ist bisher nur für Somatomedin nachgewiesen (MARSHALL 1974); die Untersuchungen darüber wurden an menschlichen Plazentazellenmembranen durchgeführt.

Die intakte Hormonfraktion des Insulingegenspielers Glukagon ist beim Diabetiker sicher erhöht (VALVERDE 1978). Auch durch Muskelarbeit wird Glukagon - wahrscheinlich β_2 -adrenerg stimuliert - vermehrt sezerniert (LUYCKX et al. 1974). Diese Untersuchung wurde an schwimmenden Ratten durchgeführt. Nehmen wir an, beim Menschen ist es ähnlich, so könnten die erhöhten Glukagonwerte in Ruhe eine periphere Reaktion - wie z.B. eine Insulinfreisetzung - auf Arbeit verhindern. So konnten zumindest bei phentolaminvorbehandelten Ratten die erhöhten Glukagonspiegel durch Arbeit nicht weiter gesteigert werden. Daß Insulin und Glukagon einen gemeinsamen hepatischen Angriffspunkt besitzen, ist heute erwiesen. Erhöhtes Glukagon hemmt in-vitro an der Rattenleberzelle die Natrium-Kalium-ATPase, was durch Insulin umkehrbar ist (LULY et al. 1972). Allerdings wird dem Glukagon derzeit nur eine geringe periphere Bedeutung zugeschrieben. In vitro ist eine Interferenz mit Insulin an Fettzellmembranen nachweisbar (RENNER et al. 1974).

Von den Glukokorticoiden wird teilweise von einem arbeitsbedingten Anstieg (RENNIE et al. 1976), teilweise von einem Abfall (BERCHTOLD et al. 1977) berichtet. Aus diesem Grunde sowie wegen der überwiegenden Funktion der Proteolyse am Muskelgewebe (STAIB 1977) möchten wir diese Hormongruppe hier vorläufig ausschließen. Darüberhinaus wird berichtet, daß die Kortisol- ebenso wie die STH-Veränderungen während Arbeit unspezifisch sind, oder nur einen permissiven Charakter für die Wirkung anderer Hormone besitzen (BERCHTOLD 1977).

Nun können nicht nur Hormone zur Erklärung der diabetischen peripheren Insulinresistenz herangezogen werden. Auch metabolische Veränderungen wurden diskutiert, so daß man heute sogar den Begriff metabolische Resistenz verwendet. Am einfachsten wäre die Erklärung, die beim Diabetiker erhöhten FFA oder Ketokörper verursachten die periphere Resistenz. Dieses Postulat entspricht dem berühmten Glukose-Fettsäure-Zyklus von RANDLE 1963. Ein Nachweis dieser an Rattenherz- und Rattenzwerchfellmuskulatur erbrachten Befunde für hu-

manes Muskelgewebe gelang im wesentlichen nicht (STAIB 1976).

Schließlich möchten wir resümieren, daß wir pathologische periphere Rezeptoren am wahrscheinlichsten halten. Doch selbst wenn der Mechanismus noch nicht klar ist, so paßt das Ergebnis - Diabetikern fehlt eine periphere Insulinreserve - zur Vermutung der peripheren Insulinresistenz des Diabetikers vom Erwachsenentyp (JENKINS et al. 1967, GINSBERG et al. 1975). Darüberhinaus stehen dem stoffwechselgesunden Muskelgewebe durch diese peripheren Speicher geringe Insulinmengen zur Verfügung, eventuell mit permissiven Effekt (BERGER 1975).

Z u s a m m e n f a s s u n g

Bei 46 Personen wurde am Unterarmmodell das periphere Verhalten von Insulin und der Insulinumsatz während einer 20-minütigen Muskularbeit untersucht. Im Untersuchungsprotokoll sind zwei große Gruppen zu unterscheiden:

a) In der ersten Gruppe wurden unter Basalbedingungen, d.h. unter Grundumsatzbedingungen und ohne zusätzliche Glukoseinfusionen

- 9 stoffwechselgesunde Probanden
- 16 Diabetiker verschiedenen Schweregrades und
- 5 Adipöse während totalen Fastens (davon 4 Diabetiker vom Erwachsenentyp)

untersucht und miteinander verglichen.

b) In der zweiten Gruppe wurde durch kontinuierliche Glukoseinfusion die Insulinsekretion stimuliert und die 16 Personen nach ihrer Insulinantwort in verschiedene Gruppen unterteilt:

- 7 mit hoher Insulinsekretion (davon 5 Gesunde, 2 Diabetiker vom Erwachsenentyp)
- 7 mit reduzierter Insulinsekretion (2 Gesunde, 3 Diabetiker vom Erwachsenentyp, 2 V.a. Diabetes mell.)
- 2 mit fehlender Insulinsekretion (2 Diabetiker vom Erwachsenentyp)

Das Alter der 4 Frauen und 42 Männer lag zwischen 18 und 64 Jahren, die mittlere Arbeitsleistung zwischen 1,0 und 1,7 W.

Die Untersuchungen wurden zwischen 8 und 10 Uhr morgens nach 14stündigem Fasten bequem im Liegen durchgeführt. Die Adipösen hatten durchschnittlich 15 Tage unter kontrollierter Nulldiät gelebt.

1. Insulin-
stoffwechsel
in Ruhe
und unter
Basalbe-
dingungen

- 1.1. Bei Diabetikern sahen wir unter Grundumsatzbedingungen im Vergleich zu Stoffwechselgesunden schwach signifikant erniedrigte arterielle Insulinkonzentrationen.
 - 1.2. Bei zwei Diabetikern vom Erwachsenentyp beobachteten wir einen basalen Hyperinsulinismus mit 3-4fach erhöhten arteriellen und venösen Insulinspiegeln.
 - 1.3. Innerhalb der Diabetikerkollektive gab es Unterschiede: nur die manifest Erkrankten, diätetisch eingestellten Diabetiker, unterschieden sich sicher in ihren Basalinsulinspiegeln von Stoffwechselgesunden.
 - 1.4. Fehlt der Reiz der exogenen Nahrungszufuhr über durchschnittlich 14 Tage wie beim Hungerstoffwechsel, liegen die arteriellen und venösen IMI-Werte unter Grundumsatzbedingungen hochsignifikant unter denen eines Vergleichskollektivs nach 12-stündiger Nahrungskarenz.
 - 1.5. Alle untersuchten Kollektive zeigten unter Ruhebedingungen im Mittel positive arterio-
tiefvenöse IMI-Differenzen.
 - 1.6. In Ruhe wurden 7 - 9 % des arteriellen Insulinangebots peripher fixiert. Nur bei manifesten Diabetikern ohne medikamentöse Therapie war die periphere Speicherung 4 %.
- ∴ Große Schwankungsbreiten zeigten, daß in Ruhe auch periphere Insulinfreigaben geschehen wurden, besonders häufig bei nicht behandelten Diabetikern

2. Insulin-
stoffwechsel
in Ruhe und
während kon-
tinuierlicher
Glukose -
infusion

- 2.1. Als Antwort auf eine exogene Glukosegabe sahen wir individuell sehr unterschiedliche pankreatische Insulinsekretionen.
- 2.2. Bei Probanden mit starker pankreatischer Insulinsekretion auf Glukosegabe verfünffachte sich die periphere Insulinfixation. Prozentual gesehen lag sie mit 8 % des arteriellen Angebots in der gleichen Höhe wie unter Grundumsatzbedingungen.
- 2.3. Probanden mit schwächerer pankreatischer Insulinsekretion auf Glukosegabe zeigten im Mittel eine schwächere periphere Insulinfixation. Es wurden im Mittel 4% des arteriellen Angebots peripher gespeichert.
- 2.4. Eine Antwort der arteriellen Insulinspiegel auf kontinuierliche Glukosegabe blieb bei zwei Diabetikern vom Erwachsenentyp völlig aus. 10 % ihres basalbleibenden arteriellen IMI-Angebots wurde peripher abgegeben.
- 2.5. Die arteriellen Insulinkonzentrationen auf einen Glukosereiz begrenzten ein Flächenintegral, das bei Diabetikern signifikant niedriger lag, als bei Gesunden.
- 2.6. Einzelne Diabetiker zeigten von Seiten ihres pankreatischen Verhaltens Flächenintegrale unter IMI-Kurven wie "Stoffwechselgesunde".
- 2.8. Unter kontinuierlicher Glukosegabe in Ruhe war das Flächenintegral unter der venösen Insulinkonzentration fast regelhaft niedriger, als das Flächenintegral unter der arteriellen Insulinkurve.

3. Insulin-
stoffwechsel
während
einer 20-
minütigen
Arbeit am
Handergo-
meter

- 3.1. Die kleine arbeitende Unterarmmuskelgruppe induzierte einen systemischen arteriellen IMI-Abfall von 15 % bei Stoffwechselgesunden.
- 3.2. Diabetiker vom Erwachsenentyp, die früher medikamentös und/oder mit Insulin eingestellt waren verhielten sich trotz Absetzen der Therapie ähnlich wie Stoffwechselgesunde.
- 3.3. Bei diätetisch eingestellten und subklinischen Diabetikern fand sich kein Anhalt für einen arbeitsinduzierten, arteriellen Insulinabfall.
- 3.4. Im Hungerstoffwechsel betrug der arbeitsinduzierte arterielle Insulinabfall 12 % und war signifikant.
- 3.5. Bei allen untersuchten Kollektiven - mit und ohne Glukoseinfusion - kehrte sich während der Arbeit die (in Ruhe im Mittel positive) arteriovenöse Insulindifferenz um.
- 3.6. Bei Stoffwechselgesunden war die bei Arbeit im Mittel gesehene Insulinfreigabe signifikant verschieden von der in Ruhe im Mittel gesehene - nen Insulinfixation.
- 3.7. Diabetiker, die bereits medikamentös und/oder mit Insulin therapiert worden waren, sowie Probanden unter Nulldiät (überwiegend Diabetiker) zeigten wie Gesunde bei Arbeit im Mittel eine Insulinfreigabe, die sich signifikant von der in Ruhe im Mittel gesehene Insulinfixation unterschied.
- 3.8. Im Mittel wurden 3 % zum arteriellen Angebot peripher sezerniert. Unter Nulldiät 9 %.

- 3.9. Noch nie behandelte Diabetiker - subklinische sowie diätetisch Eingestellte - zeigten keinen Unterschied im Insulinverhalten zwischen Ruhe und Arbeit. Die Ursache liegt in einem Zuviel negativer arterio-venöser Insulinwerte bereits in Ruhe.
- 3.10. Durch die Arbeit erhöhte sich die venöse IMI-Konzentration wesentlich stärker als die arterielle bei Probanden mit starker Insulinsekretion auf Glukosegabe; daraus konnten wir eine periphere Insulinfreisetzung während Arbeit auch unter Glukosespiegeln nachweisen, die den natürlichen Bedingungen näher kommen.
- 3.11. Im Mittel wurden unter Glukoseinfusion $1,7 \mu\text{E/ml}$ oder $28 \mu\text{E/min}$ und 100g Feuchtgewebe freigesetzt. Wie unter Grundumsatzbedingungen entspricht diese Insulinfreigabe 3% des arteriellen Angebots.
- 3.12. Da die arteriellen Kurven wegen der exogenen Glukosegabe während der Arbeit anstiegen, ist die periphere Freigabe ausschließlich auf eine Insulinkonzentrationserhöhung im venösen Schenkel zurückzuführen.
- 3.13. Bei Probanden mit reduzierter Insulinsekretion auf Glukosegabe wurde nur vereinzelt, vorwiegend zu Beginn der Arbeit eine periphere Insulinfreisetzung gesehen, die über die gesamte Arbeitsperiode im Mittel nicht bestand.
- 3.14. Zwei Diabetiker ohne pankreatische Insulinausschüttung, sezernierten peripher während Arbeit $1 \mu\text{E/ml}$ IMI, entsprechend 8% des arteriellen Angebots.

- 3.15 Bei Stoffwechselgesunden ist während Muskularbeit und unter exogener Glukosegabe das Flächenintegral unter den venösen Insulinkurven größer als das Flächenintegral unter den arteriellen.
- 3.16. Bei Diabetikern ist während Muskularbeit und unter exogener Glukosegabe das Flächenintegral unter den venösen Insulinkurven kleiner als das Flächenintegral unter den arteriellen.

4. Insulin-
verhalten
während der
Periode
nach Arbeit

- 4.1. In der von uns überprüften Erholungsphase war bei Stoffwechselgesunden das Insulinverhalten weder von Ruhe noch von Arbeit signifikant verschieden. Tendenzmäßig zeigte sich im Mittel eine Insulinspeicherung ähnlich wie in Ruhe.
- 4.2. Bei Diabetikern, die bereits medikamentös und/oder mit Insulin therapiert worden waren, war das Insulin während der Erholungsphase signifikant verschieden vom Insulin während Arbeit.
- 4.3 Bei Adipösen während totalen Fastens hielt die periphere Insulinfreigabe auch in der Periode nach Arbeit an, so daß sich die Erholungswerte signifikant von den Ruhewerten unterschieden.

Literatur

Methodik

- BACHL, G.: Untersuchungen zum Kohlenhydratstoffwechsel der arbeitenden Unterarmmuskulatur bei Stoffwechselgesunden und Diabetikern. Inauguraldissertation, Universität München 1976
- BACHL, I.: Untersuchungen zum Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsel der arbeitenden Unterarmmuskulatur im Hungerzustand. Inauguraldissertation, Universität München 1979
- BOTTERMANN, P., R. ERMER, J. HENNER: A semiautomatic method for immunoassay of insulin and GH. *Horm.a.Met.Res.* 3 (1971) 55-56
- BRODAL, B.P.: Evidence of an enzymatic degradation of insulin in blood in vitro. *Eur.J.Biochem.* 18 (1971) 201
- BÜTTNER, J.: Kontrolle klinisch-chemischer Analysen unter besonderer Berücksichtigung von Methoden der klinischen Endokrinologie.
In: Funktionsdiagnostik in der Endokrinologie.
SCRIBA, P.C., K.v.WERDER und J. KRACHT. *Dtsch.med. Wschr.* 97 (1972) 919
- CANTRELL, J.W., J.M. HOCHHOLZER, C.S. FRINGS: Effect of hemolysis on the apparent concentration of insulin in plasma. *Clin.Chem.* 18 (1972) 1423-1425
- CARROLL, K.F., P.J. NESTEL: Diurnal variations in glucose tolerance and in insulin secretion in man. *Diabetes* 22 (1973) 333-348
- CLEMM, CH.: Inauguraldissertation Universität München 1976
- DIETERLE, CH.: Zum Muskelstoffwechsel. Substrataufnahme beim Gesunden unter Grundumsatzbedingung und bei kurzzeitiger Belastung. Inauguraldissertation München 1970
- ERHARDT, F., SOUVATZOGLU, P.C. SCRIBA: Qualitätskontrolle in der endokrinologischen Notfallsdiagnostik unter besonderer Berücksichtigung radioimmunologischer Bestimmungen (LH, Insulin).
- FAIMAN, C., J.A. MOORHOUSE: Diurnal variations in the levels of glucose and related substances in healthy and diabetic subjects during starvation. *Clin.Sci.* 32 (1967) 111
- FELDMAN, J.M., B.A. CHAPMAN: RIA of insulin in serum and plasma. *Clin.Chem.* 19/11 (1973) 1250-1254

- FREINKEL, N., M. MAGER, L. VINNICK: Cyclicity in the inter-relationships between plasma insulin and glucose during starvation in normal young men. *J.Lab.Clin. Med.* 71 (1968) 171
- GOTTSMANN, M.: Probleme der radio-immunologischen HGH-Bestimmung, Inauguraldissertation Universität München 1973
- GREENWOOD, F.C., W.M. HUNTER, J.S. GLOVER: The preparation of iodine-131 labelled human growth hormone of high specific radioactivity, *Biochem.J.* 89 (1963) 114-123
- GUTMAN, R.A., N.R. LAZARUS, L. RECAN: Electrophoretic characterisation of circulating human proinsulin and insulin. *Diabetologia* 8 (1972) 136-140
- HALES, C.N., P.J. RANDLE: *Lancet*, i, 200, 1963. *Biochem.J.* 88 (1963) 137
- HARDWICK, C., W.J.H. BUTTERFIELD, J.K. FRY, J.H. BRIGGS: Direct measurement of the effect of insulin on the uptake of glucose by peripheral muscles in normal subjects, diabetics and acromegalics. *Proc. Royal Soc. Med.* 52 (1959) 807
- HENDERSON, J.R.: Seruminsulin or plasmainsulin? *Lancet* (1970/II) 545
- JARETT, R.J., I.A. BAKER, H. KEEN, N.W. OAKLEY: Diurnal variations in oral glucose tolerance; blood sugar and plasma insulin levels morning, afternoon, and evening. *Brit.med.J.* 1 (1972) 199
- KABAT, F.A., M.M. MAYER: *Experimental immunochemistry* 2nd Ed., 3rd Print. Charles C.Thomas, Springfield/Ill. (USA), (1961) 405
- LASSEN, N.A., J. LINDBERG, O. MUNCK: Measurements of blood-flow through skeletal muscle by intramuscular injection of xenon-133. *Lancet* I (1964) 686-689
- LERMAN, J.: Insulin-resistance. The role of immunity in its production. *Amer.J.med.Xci.* 207 (1944) 354-360
- MALHERBE, C., M.DE GASPARO, R.DE HERTOIGH, J.J. HOET: Circadian variations of blood sugar and plasma insulin levels in men. *Diabetologia* 5 (1969) 397
- MATZKIES, F., W. GRABNER, H. PRESTELE, U. DANIEL, J. PHILLIP, K.FISCHER: Untersuchungen zur circadianen Rhythmik der Glukosetoleranz mit 50 und 100g Glukose. 9.Kongress der DDG, Travemünde 1974
- MELANI, F., H. DITSCHUNEIT, K.M. BARTELT, M. FRIEDRICH, E.F. PFEIFFER: Über die radioimmunologische Bestimmung von Insulin im Blut. *Klin. Wschr.* 43 (1965) 1000-1007

- MORGAN, C.R., A. LAZAROW: Diabetes, 12 (1963) 115; Diabetes, 13 (1964) 579
- OROSZ, L.: Serum insulin or plasma insulin. Lancet (1973) 491-2
- PRUETT, E.D.R.: Glucose and insulin during prolonged work stress in men living on different diets. J. Appl. Phys. 28/2 (1970) 199-208
- RABINOWITZ, D., K.L. ZIERLER: forearm metabolism in obesity and its response to intra-arterial insulin: Characterization of insulin resistance and evidence for adaptive hyper-insulinism. J.Clin.Invest. 12 (1962) 2173
- RODBARD, D., J.J. RUDER, J. VAITUKAITIS, H.S. JACOBS: Mathematical analysis of kinetics of radioligand assays. Improved sensitivity obtained by delayed addition of labelled ligand. J.Clin.Endokrinol.Metab. 33 (1971) 343
- SACHS, C.: Statistische Auswertungsmethoden. Springer 3.Aufl. 256
- SENSI, S., F. CAPANI, P. CARADONNA, D. POLICCHIO, M. CAROTENUTO: Diurnal variations of insulin response to glycaemic stimulus. Biochem. Biolog. Sper. 9 (1970) 3
- SKOM, J.H., D.W. TALMAGE: The role of nonprecipitating insulin in diabetes. J.Clin.Invest 37 (1958) 787-793
- YALOW, R.S.: Radioimmunoassay. Circulation research, Suppl.I, Vols. 32 und 33 (1973) I-116-128
- YALOW, R.S., S.A. BERSON: J.clin.Invest. 39 (1960) 1157
- WAHREN, J.: Human forearm muscle metabolism during exercise. IV. Glucose uptake at different work intensities. Scand.J.clin. Lab.Invest 25 (1970) 129-135
- ZETTNER, A., P.E. DULY: Principles of competitive binding assays (saturation analyses). II Sequential saturation Clin.Chem. 20/1 (1974) 5-14

Diskussion

BACHL, G.: siehe Literatur der Methodik

BACHL, I.: siehe Literatur der Methodik

BAGDADE, J.D., BIERMAN, E.L., PORTE, jr., D.: The significance of basal insulin levels in the evaluation of the insulin response to glucose in diabetic and non-diabetic subjects. *J. Clin. Invest.* 46 (1967) 1549-57

BARRINGTON, E.J.W.: An introduction to General and Comparative Endocrinology, 2nd ed., Clarendon Press Oxford (1975) Kapitel IV, 30-35

BECK-NIELSEN, H., PEDERSEN, O., BAGGER, J.P., SCHWARZ-SØRENSEN, N.: A study of insulin receptors in human mononuclear leucocytes. *Acta Endocrinologica* 83 (1976) 556-64

BERGER, M., HAGG, S., RUDERMAN, N.B.: Glucose metabolism in perfused skeletal muscle. Interaktion of insulin and exercise on glucose uptake. *Biochem. J.* 146 (1975) 231-8

BERGER, M., BERCHTOLD, P., CÜPPERS, H.J., DROST, H., KLEY, H.K., MÜLLER, W.A., WIEGELMANN, W., ZIMMERMANN-TELSCHOW, H., GRIES, F.A., KRÜSKEMPER, H.L., ZIMMERMANN, H.: Metabolic and hormonal effects of muscular exercise in juvenile type diabetics. *Diabetologia* 13 (1977) 355-65

BERCHTOLD, P., BERGER, M., WIEGELMANN, W., DROST, H., KLEY, H.K., CÜPPERS, H.J., SCHÄFER, U., GRIES, F.A., ZIMMERMANN, H.: Hormonelle Reaktionen unter Muskelarbeit. Arbeitstagung der DDG Bad Neuenahr, 6./7.11.75. In: Muskelstoffwechsel, körperliche Leistungsfähigkeit und Diabetes mellitus. Herausgegeben von: JAHNKE, MEHNERT, REIS, Schattauer Verlag Stuttgart, N.Y. 1977

BJØRNTORP, P., FAHLEN, M., GRIMBY, G., GUSTAFSON, A., HOLM, J., RENSTROM, P., SCHERSTEN, T.: Carbohydrate and lipid metabolism in middle-aged, physically well-trained men. *Metabolism* 21 (1972) 1037-44

BLACKARD, G.W., ANDERSON, J.H., MULLINAX, F.: Anti-insulin receptor antibodies and diabetes. *Ann. Ind. Med.* 86 (1977) 584-585

BUTTERFIELD, W.J.H., WHICHELOW, M.J.: Peripheral glucose metabolism in control subjects and diabetic patients during glucose, glucose-insulin and insulin sensitivity test. *Diabetologia* 1 (1965) 43

- CARLSON, L.A., KAIJSER, L., ROSSNER, S., WAHLQVIST, M.W., WIDE, L.: Changes in insulin immunoreactivity across the coronary circulation in man during infusions of glucose and a fat emulsion. *Europ. J. Clin. Invest.* 5 (1975) 57-61
- CHOCHINOV, R.H., DAUGHADAY, W.H.: Current concepts of somatomedin and other biologically related growth factors. *Diabetes* 25 (1976) 994-1007
- CHRISTENSEN, N.J.: Abnormally high plasma catecholamines at rest and during exercise in ketotic juvenile diabetics. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 26 (1970) 343-344
- CLAUSEN, T.: Calcium, glucose transport and insulin action. In: SEMENZA, G., CARAFOLI, E.: *Biochemistry of Membrane Transport*; FEBS-Symposium No. 42. Springer Verlag, Berlin-Heidelberg, N.Y. (1977) 481-499
- COCHRAN, jr., B., MARBACH, E.P., POUCHER, R., STEINBERG, T., GWINUP, G.: Effect of acute muscular exercise on serum immunoreactive insulin concentration. *Diabetes*, 15 (1966) 838-841
- COORE, H.G., RANDLE, P.J.: Regulation of insulin secretion with pieces of rabbit pancreas incubated in-vitro. *Biochem. J.* 93 (1964) 66-78
- COUTURIER, E., CAMU, F., RASIO, E., CONRAD, V.: Insulin distribution and glucose uptake during muscular exercise in the hind limb of the dog. *Diabetologia* 6 (1970) 624
- CROFFORD, O.B., RENOLD, A.E.: Glucose uptake by incubated rat epididymal adipose tissue. Rate limiting steps and site of insulin action. *J. Biol. Chem.* 240 (1965) 14
- CUATRECASAS, P.: The nature of insulin-receptor interactions. Academic Press (1971)
- CUATRECASAS, P.: The insulin receptor. *Diabetes*, 21 (1972) 396-402
- Cullmann, W., VLAHO, M., SCHINDLER, J., DIERDORF, J.: Untersuchungen zum Spurenelement und Insulinhaushalt im Serum von Dialysepatienten. *Verhandlungen der Inneren Medizin*, 85. Internisten Kongress Wiesbaden 1979, 963-966

- DIETERLE, P., GMEINER, K.H., HENNER, J., DIETERLE, C., SCHWARZ, K.: Evidence for peripheral release of insulin during muscular work in man. *Hormone Metab. Res.* 4 (1972) 54
- DIETERLE, P., BIRKNER, B., GMEINER, K.-H., WAGNER, P., ERHARDT, F., HENNER, J., DIETERLE, C.: Release of peripherally stored insulin during acute muscular work in man. *Hormone Metab. Res.* 5 (1973) 316-322
- DIETERLE, P.: Verhalten von Insulin bei körperlicher Arbeit. Arbeitstagung der DDG Bad Neuenahr 6./7.11.1975 In: Muskelstoffwechsel, körperl. Leistungsfähigkeit und Diabetes mellitus. Herausgegeben von: JAHNKE, MEHNERT, REIS, Schattauer Verlag Stuttgart, N.Y. (1977)
- DIETERLE, P., BACHL, I., BACHL, G., HENNER, J., FROMMELD, D., MINKUS, P., DIETERLE, C., HESSE, K.P., NASSE-HINAJAD, F.: Muscle metabolism during exercise in diabetics and in obese during starvation. *Hormone and Metabolic Research*, 10 (1978) 263
- DIETZE, G., WICKLMAYR, M.: Effekt von Bradykinin auf die Glukoseaufnahme durch die Muskulatur beim Menschen. *Klin. Wschr.* 55 (1977) 357
- DIETZE, G., WICKLMAYR, M.: Evidence for a participation of the kallikrein-kinin system in the regulation of muscle metabolism during muscular work. *FEBS Letters* 74/2. (1977) 205
- DIETZE, G., WICKLMAYR, M., MAYER, L.: Evidence for a participation of the kallikrein-kinin system in the regulation of muscle metabolism during hypoxia. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* 358 (1977) 633
- DILL, D.B., EDWARDS, H.T., MEAD, S.: Blood sugar regulation in exercise. *Amer. J. Physiol.* 111 (1935) 21
- DORCHY, H., NISSET, G., OOMS, H., PORTMANS, J., BARAN, D., LOEB, H.: Study of the coefficient of glucose assimilation during muscular exercise in diabetic adolescents deprived of insulin. *Diabetes Metab.* 3 (1977) 31-34
- GEDIGK, P., TOTOVIC, V.: Zell- und Gewebsschäden. In: EDER, M., GEDIGK, P.: *Lehrbuch der Allgemeinen Pathologie und der Pathologischen Anatomie*. 29. Aufl. Springer Verlag Berlin, Heidelberg, N.Y. (1974) 38
- FELDMANN, J.M., CHAPMAN, B.: Mechanism of catecholamine in-activation by the endocrine pancreas. *Diabetes*, 23 (1974) 754-762
- FELIG, Ph., WAHREN, J., HENDLER, R., AHLBORG, G.: Plasma glucagon levels in exercising man. *N. Engl. J. Med.* 287 (1972) 184-185
- GABBAY, K.H., DeLuca, K., FISCHER, J.N., MAKO, M.E., RUBENSTEIN, A.H.: Familial hyperproinsulinemia. An autosomal dominant defect. *New. Engl. J. Med.* 294 (1976) 911-915

- FELIG, P., WAHREN, J.: The liver as site of insulin and glucagon in normal, diabetic and obese humans.
In: SHAFRIR, E., Ed. Contemporary Topics in the Study of Diabetes and Metabolic Endocrinology. New York, Academic Press, 1975
- FLIER, J.S., KAHN, C.R., ROTH, J.: Antibodies that impair insulin receptor binding in an unusual diabetic syndrome with severe insulin resistance. *Science* 190 (1975) 63-65
- FREYCHET, D.: Binding of insulin on distinct membran sites. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 43 (1972) 400
- FROESCH, E.R., GINSBERG, J.L.: Fructose metabolism of adipose tissue. I. Comparison of fructose and glucose metabolism in epididymal adipose tissue of normal rats. *J. Biol. Chem.* 237 (1962) 11
- GALBO, H., CHRISTENSEN, N.J., HOLST, J.J.: Catecholamines and pancreatic hormones during automatic blockade in exercising man. *Acta Physiol. Scand.* 101 (1977) 428-437
- GINSBERG, H., KIMMERLING, G., REAVEN, G.M.: Demonstration of insulin resistance in untreated adult onset diabetic subjects with fasting hyperglycemia. *J. Clin. Invest.* 55 (1975) 454-461
- GINSBERG, B.H., KAHN, C.R., ROTH, J.: *Biochem. Biophys. Acta*, 443 (1976) 227-242
- GLICK, S.M.: Normal and abnormal secretion of growthhormon. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 148 (1968) 471
- GOLDFINE, I.D., SMITH, D.: Binding of insulin to isolated nuclei. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 73 (1976) 1427-1431
- GOLDSTEIN, M.S., MULLICK, V., HUDDLESTON, B., LEVINE, R.: Action of muscular work on transfer of sugars across cellbarriers; comparison with action of insulin. *Amer. J. Physiol.* 173 (1953) 212
- GRINSTEN, S., ERLIS, D.: Insulin unmasks latent sodium pump sites in frog muscle. *Nature* 251 (1974) 57
- HAMMERSTEN, J., HOLM, J., BJØRNTORP, P., SCHERSTEN, T.: Arterial insufficiency. Effect of arterial reconstructive surgery. *Metabolism* 26 (1977) 883

- HARPER, LÖFFLER, PETRIDES, WEISS: Phys. Chemie. Springer Verlag Berlin-Heidelberg-N.Y. 1975, S. 659
- HARRISON, R., LUNT, G.G.: Biologische Membranen. G. Fischer Verlag Stuttgart, N.Y. 1977, S. 140 ff
- HEDING, L.G.: Specific and direkt radioimmunoassay for human proinsulin in serum. Diabetologia 13 (1977) 467-474
- HEPP, K.D.: Einführung in die Biochemie und Physiologie des Stoffwechsels Kap. I, S. 21. In: Diabetologie in Klinik und Praxis, herausgegeben von MEHNERT, H., SCHÖFFLUNG, K. G. Thieme Verlag 1974
- HEPP, K.D.: Studies on the mechanism of insulin action: Basic concepts and clinical implications. Diabetologia 13 (1977) 177-180
- HEPP, D.: Insulinwirkung, Rezeptorbindung und Signalübertragung. Med. Klin. 75 (1980) 276-287
- HOLLOSZY, J.O., NARAHARA, H.T.: Enhanced permeability to sugar associated with muscle contraction: studies of the role of Ca^{++} . J. Gen. Physiol. 50 (1967) 551-562
- HUNTER, W.M., SUKKAR, W.J.: Changes in plasma insulin levels during muscular exercise. J. Physiol. 196 (1968) 110
- HUYCK, KRUGHØFFER (1953): zitiert bei RUSSEL, J.A., WILHELMI, A.E.: IV. Endocrines and Muscle 1960 in BOURNE, G.M. Muscle Vol. II, 151
- INGLE, J., NEZAMIS, J.E., RICE, U.L.: Work output and blood glucose values in normal and in diabetic rats subjected the stimulation of muscle. Endocrinology 46 (1950) 505
- ISSEKUTZ, B., jr., SHAW, W.A.: Glucose turnover in the exercising dog with chemically induced diabetes and the effect of methylprednisolone. Diabetes 24 (1975) 915-921
- JAQUES, P.J., WATTIAUX-BECOMICK, S.: Abstr. Comm. 6th Meet. Fed. Europ. Biochem. Soc. 279 (1969)
- JENKINS, D.J.A.: Modern concepts of free fatty acid and blood glucose homeostasis in diseases involving altered lipid metabolism. Lancet II (1967) 340

- JOHNSON, R.H., PARK, D.M., RENNIE, M.J., SULAIMAN, W.R.: Hormonal responses to exercise in racing cyclists. *J. Physiol. London* 241 (1974) 23-25
- KAHN, C.R.: Insulin receptors in disease states in man. *Verhandlungen der Inneren Medizin*, 85. Internistenkongress Wiesbaden 1979, Vortrag 44.
- KALANT, N., LEIBOVICI, T., ROHAN, I., McNEIL, K.: Effect of exercise on glucose and insulin utilisation in the forearm. *Metabolism*, 27 (1978) 333-340
- KARAM, J.H., GRODSKY, FORSHAM: Excessive insulin response to glucose in obese subjects as measured by immo-chemical assay. *Diabetes* 12 (1963) 196-204
- KARLSON, P.: *Kurzes Lehrbuch der Biochemie*, 6. Aufl. Thieme Verlag Stuttgart, 1967
- KEUL, J., DOLL, E., KEPPLER, D.: Zum Stoffwechsel des Skelettmuskels. I. Glucose, Lactat, Pyruvat und freie Fettsäuren im arteriellen und venösen Blut der arbeitenden Muskulatur bei Hochleistungssportlern. *Pfluegers Arch.* 301 (1968) 198-213
- KLASSEN, G.A., RABINOWITZ, D., ZIERLER, K.L.: Palmitic and oleic acids as a major energy source for human forearm muscle. Supplement II to *Circulation*, Vols. 32 (1965) 126
- KRAHL, M.E.: *The action of insulin on cells*. Academic Press, N.Y.-London (1961) 169
- LANSBERG, L.: The sympathoadrenal system. Kap. 10 in: INGBAR, S. in *The Year in Endocrinology 1977*, Plenum Medical Book Co. N.Y. und London
- LULY, P., BARNABEI, O., TRIA, E.: Hormonal control in vitro of plasma membrane-bound ($\text{Na}^+ - \text{K}^+$)-ATPase of rat liver. *Biochim. Biophys. Acta* 282 (1972) 447
- LUNDGAARD, E.: The phosphate exchange between blood and tissue in experiments with artificially perfused livers and hind limb preparates. *Scand. Arch. Physiol.* 80 (1938) 291
- LUYCKX, A.S., LEFEBRE, P.J.: Mechanisms involved in the exercise induced increase in glukagon secretion in rats. *Diabetes* 23 (1974) 81-93
- MARQUARDT, R.: Auswirkungen von Dopamin und Metaproterenol auf den Serumspiegel der FFS. *Med. Welt* 30 (1979) 707-708

- MARSHALL, R.N., UNDERWOOD, L.E., VOINA, S.J., FOUSHEE, D.B., VAN WYK, J.J.: Characterization of the insulin and somatomedin-C receptors in human placental cell membranes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 39 (1974) 283
- METZGER, P., ROGISTER, C., TINANT, A., CONARD, V.: Influence of muscular exercise on glucose utilisation. *Diabetologia*, 8 (1972) 58
- MORGAN, H.E., REGEN, D.M., HENDERSON, M.J., SAWYER, T.K., PARK, C.R.: Regulation of glucose uptake in muscle. VI. Effects of hypophysectomy, adrenalectomy, growth hormone, hydrocortisone, and insulin on glucose transport and phosphorylation in the perfused rat heart. *J. Biol. Chem.* 230 (1961) 2162-2168
- MOXNESS, R.E., MOLNAR, G.D., MCGUCKIN, W.F.: Exercise and blood glucose concentration in intact and pancreatectomized dogs. *Diabetes* 13 (1964) 37
- NIKKILÄ, E.A., TASKINEN, M.-R., MIETTINEN, T.A., PELKONEN, R., POPPIUS, H.: Effect of muscular exercise on insulin secretion. *Diabetes*, 17 (1968) 209-218
- OLEFSKY, J.M.: The insulin receptor: Its role in insulin resistance of obesity and diabetes. *Diabetes* 25 (1976) 1154-1162
- PAUL, P., ISSEKUTZ, B., jr.: Role of extramuscular energy sources in the metabolism of the exercising dog. *J. Appl. Physiol.* 22(4) (1967) 615-622
- PHILIPPI, H.: Vortrag auf dem Wissenschaftlichen Kolloquium über Kallikrein, veranstaltet von der Firma Bayropharm-Köln im Rahmen des Deutschen Kongresses für ärztliche Fortbildung, Berlin, 8. Juni 1979
- PORTE, D., WILLIAMS, R.H.: Inhibition of insulin release by norepinephrine in man. *Science* 152 (1966) 1248-1250
- POULSEN, J.E., DECKERT, T., ANDERSEN, O.O., HANSEN, B., LINDE, S., ANDRESEN, F.H. PEDERSEN, E.: Die Antigenität des Insulins. Monographie des Nordisk Insulinlaboratoriums 1973
- PRUETT, E.D.: Glucose and insulin during prolonged work stress in men living on different diets. *J. Appl. Physiol.* 28 (1970) 199

- RAFAELSON, LAURIS, RENOLD: Localized intraperitoneal action of insulin on rat diaphragma and epididymal adipose tissue in vivo. *Diabetes*, 14 (1965) 19-26
- RANDLE, P.J., HALES, C.N., GARLAND, P.B. NEWSHOLME, E.A.: The glucose fatty-acid cycle: Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet* I (1963) 785
- RAPPOPORT: *Medizinische Biochemie* 5. Aufl. (1969) 732
- RASIO, E.A., WICHELOW, M.J., BUTTERFIELD, W.J., HICKS, B.H.: Insulin fixation and glucose uptake by forearm tissues in response to infusions of physiological amounts of insulin in non-diabetic subjects. *Diabetologia* 8 (1972) 244
- RASIO, E.A.: The displacement of insulin from blood capillaries. *Diabetologia* 5 (1969) 416
- REINHEIMER, W., DAVIDSON, P.C., ALBRINK, M.J.: Effect of moderate exercise on plasma glucose, insulin and free fatty acids during oral glucose tolerance tests. *J. Lab. Clin. Med.* 71 (1968) 429
- RENNER, R.: Evidence for an insulin receptor in muscle. *FEBS Letters* 32 (1973) 87-90
- RENNER, R., KEMMLER, W., HEPP, K.D.: Antagonism of insulin and lipolytic hormones in the control of adenylate-cyclase activity in fat cells. *Eur. J. Biochem.* 49 (1974) 129-141
- RENNIE, M.J., JOHNSON, R.H.: Alteration of metabolic and hormonal responses to exercise by physical training. *European J. Appl. Physiol.* 33 (1974) 215-226
- RENNIE, M.J., PARK, D.M., SULAIMAN, W.R.: Uptake and release of hormones and metabolites by tissues of exercising leg in man. *Am. J. Physiol.* 231 (1976) 967-973
- ROSS, R., GLOMSET, J.A.: The pathogenesis of atherosclerosis. *New England J. of Med.* (1976) 369-377, 420-425
- ROY, C.C., SHAPCOTT, J.J., O'BRIEN, D.C.: The case for an "abnormal" insulin in diabetes mellitus. *Diabetologia* 4 (1968) 111
- SACKS, J., SMITH, J.F.: Effects of insulin and activity on pentose transport into muscle. *Amer. J. Physiol.* 192 (1958) 287
- TRAP-JENSEN, J., LASSEN, N.A.: Increase capillary diffusion capacity for small ions. *Scand.J.Clin.* 21 (1968) 116

- SCHALCH, D.S.: The influence of physical stress and exercise on growthhormone and insulin secretion in man. *J.Lab.Clin.Med.* 69 (1967) 256
- SELTZER, H.S., HARRIS, V.L.: Exhaustion of insulinogenic reserve in maturity-onset diabetic patients during prolonged and continuous hyperglycemic stress. *Diabetes* 13 (1964) 6
- SINGER, S.J., NICOLSON, G.L.: The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science* 175 (1972) 720-31
- STADIE, W.C., HARGAARD, HILLS, MARSH: The chemical combination of insulin with muscle (diaphragm) of normal rat. *Ann.J.Med.Sci.* 218 (1949) 265-274
- STAIB, W.: Aktuelle Probleme des Muskelstoffwechsels. In: Arbeitstagung der DDG Bad Neuenahr 6./7.11.1975 In: Muskelstoffwechsel, körperl. Leistungsfähigkeit und Diabetes mellitus. Herausgegeben von: JAHNKE, MEHNERT, REIS, Schattauer Verlag Stuttgart, N.Y. (1977)
- STEINER, D.F., CLARK, J.L., NOLAN, C., RUBENSTEIN, A.H., MARGOLIASH, E., ATEN, B., OYER, P.E.: Proinsulin and biosynthesis of insulin. *Rec.Progr.Horm.Res.* 25 (1969) 207
- STEPHAN, F., REVILLE, Ph., THIERRY, R., SCHLIENGER, J.L.: Correlations between plasma insulin and body weight in obesity, anorexia nervosa and diabetes mellitus. *Diabetologia* 8 (1972) 196-201
- SUTTON, J.R., YOUNG, LAZARUS, HICHIE, MAKUSUYTIS: The hormonal response to physical exercise. *Aust. Ann. Med.* 18 (1969) 84-90
- SUTTON, J.R., COLEMAN, CASEY, LAZARUS: Androgen response during physical exercise. *Brit.-med. J.* 1 (1977), 520
- SZANTO, S.: Metabolic studies in physically outstanding elderly men. *Age. Ageing* 4 (1975) 37-42
- VALDENNAIRE, K., KLEIN, W.: *Dtsch. med. Wschr.* 104 (1979) 1637-39
- VOLGER, E., SCHMID-SCHÖNBEIN, H.: Vortrag auf der Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Angiologie, Hannover, 30. Sept. bis 2. Okt. 1976
- VRACKO, R., BENDITT, E.P.: Manifestations of diabetes mellitus - Their possible relationships to an underlying cell defect. *Am. J. Pathol.* 75 (1974) 204-221
- VALVERDE, I.: Formen des zirkulierenden Glukagons beim Menschen *MMW* 120 (1978) 407

- WAHLQVIST, M.L., KAIJSER, L., LASSER, B.W., LÖW, H., CARLSON, L.A.: Release of immunoreactive insulin from the human heart. *Europ. J. Clin. Invest.* 2 (1972) 407
- WAHLQVIST, M.L., CARLSON, L.A., KAIJSER, L., LÖW, H., PEAK, H.J., WIDE, L., WILMSHURST, E.G.: Uptake and release of immunoreactive insulin in coronary circulation in man: studies at rest, during exercise, and during glucose and insulin infusions. *Recent Adv. Stud. Cardiac Struct. Metab.* 11 (1976) 335-361
- WICKLMAYR, M., DIETZE, G., GÖTTGER, J., MEHNERT, H.: Untersuchungen zur Insulinsensitivität von Leber und Muskulatur des Menschen. *Verhandlungen der Inneren Medizin.* 85. Internistenkongress Wiesbaden 1979, 993-997
- WILBRANDT, W., ROSENBERG, T.: The concepts of carrier transport and its corollaries in pharmacology. *Pharmacol. Rev.* 13 (1961) 109
- WILLIAMS, R.H.: Editor: *The Pancreas in: Textbook of Endocrinology* 4. Aufl., W.B. SAUNDERS Co. Philadelphia, London, Toronto, 1968, S. 614
- ZILKER, Th., KRÄNZLIN, Th., SCHWEIGART, U., ERLER, R., BOTTERMANN, P.: Radioimmunologische Seruminsulinbestimmung beim manifesten Diabetes mellitus als Parameter der Therapieplanung. *Med. Klin.* 71 (1976) 761

Meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. med. P. Dieterle, Chefarzt der III. Med. Abt. des Krankenhauses München-Neuperlach gilt mein besonderer Dank für die Themaüberlassung, die Durchführung der experimentellen Untersuchungen, die stete Hilfsbereitschaft und außergewöhnliche Geduld.

In der endokrinologischen Abteilung der Innenstadt-Klinik der Universität München wurden mir gute Arbeitsmöglichkeiten zur Erlernung und Durchführung des Insulin-Radio-Immunoassays geboten. Auch die EDV- und statistische Auswertung konnte dort reibungslos ablaufen.

Für die Hilfestellung bei der schnellen Computerberechnung der Integrale danke ich Herrn Wolfgang Braun.

Meinen Studienfreunden und Kollegen, besonders Dres. Ilona und Georg Bachl, sowie Dres. Farideh und Klaus-Peter Hesse sei für die gute Zusammenarbeit und die Erarbeitung des Themas aus der Sicht des Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsels gedankt.

Für die kostenlose Literaturbereitstellung danke ich dem Deutschen Institut für medizinische Dokumentation und Information, Köln.

Für die Niederschrift der Arbeit danke ich meiner Mutter und Frau Josefine Neumann.

Lebenslauf

Angaben zur Person: Name: Dietmar Josef Anton Frommeld
 geb. am: 29. November 1950
 in: Vilsbiburg/Niederbayern
 Konfession: rk
 Eltern: Franz-Xaver Frommeld
 Marianne Frommeld, geb. Bittl

Schulbildung: 4 Jahre Kath. Knabenvolksschule
 Vilsbiburg
 9 Jahre Neusprachliches Gymnasium
 in Landshut/Bayern
 Abitur: 20.06.70 Hans-Carossa-Gym.

Studium: Immatrikulation im Wintersemester 70/71
 an der Humanmedizinischen Fakultät der
 Ludwig-Maximilians-Universität München

 September 1971 naturwissenschaftliche
 Vorprüfung
 06. April 1974 ärztliche Vorprüfung
 11. Febr. 1977 ärztliche Prüfung

Medizinalassistenten-
 Zeiten: Juli - Oktober 1977 chir. Abt. des
 Klinikum rechts der Isar der Technischen
 Universität München (Prof. Dr. Maurer)

 Januar - April 1978 dermatol. Klinik
 und Poliklinik der Universität München
 (Prof. Dr. O. Braun-Falco)

 Juni - November 1978 III. Med. Abt. des
 Städt. Krankenhauses Neuperlach
 (Prof. Dr. P. Dieterle)

 Januar - Juni 1979 Max-Planck-Institut
 der Psychiatrie München Station 5
 (Prof. Dr. D. von Zeersen)

Grundwehrdienst: Juli 1979 - Oktober 1980
 Einberufung als Stabsarzt im Sanitäts-
 dienst der Bundeswehr

